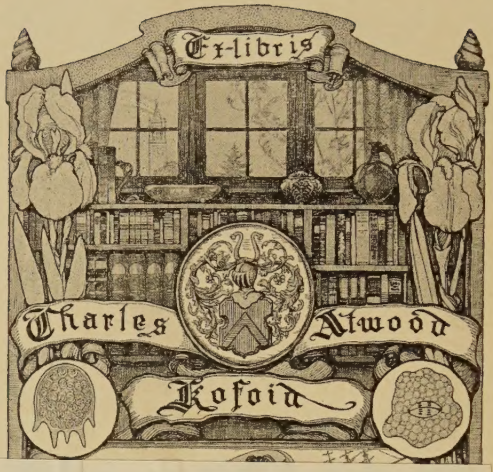
5499
THESIS. AMSTERDAM. 1925.

DE VERWEKKER VAN DE RATTEBEET-ZIEKTE

DOOR

A. CH. RUYS

AANGEBODEN DOOR DE
AFDEELING TROPISCHE HYGIENE
VAN HET KOLONIAAL I
AMSTERDA
LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.
LEESMUSEUM
AMSTERD
NI



LANE
MEDICAL LIBRARY
SEAL OF THE LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY
SEMPER VIRENS
1885

Gift of
Mr. William Wreden

5409

LEESMUSEUM
AMSTERDAM.

DE VERWEKKER VAN DE RATTEBEET-ZIEKTE

DOOR

A. CH. RUYS

LEESMUSEUM
AMSTERDAM

DE VERWEKKER VAN DE RATTEBEET-ZIEKTE

ACADEMISCH PROEFSCHRIFT TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN DOCTOR IN DE GENEESKUNDE AAN DE UNIVERSITEIT VAN AMSTERDAM, OP GEZAG VAN DEN RECTOR MAGNIFICUS, Dr. OTTO LANZ, HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE, IN HET OPENBAAR TE VERDEDIGEN IN DE AULA DER UNIVERSITEIT OP VRIJDAG 3 JULI 1925, DES NAMIDDAGS TE 4 UUR

DOOR

ANNA CHARLOTTE RUYS
ARTS
GEBOREN TE DEDEMSVAART

LEESMUSEUM
AMSTERDAM

AAN MIJNE OUDERS

Bij het beëindigen van dit proefschrift wil ik U, hoogleeraren en lectoren van de medische en philosophische faculteit der Utrechtsche en Groningsche Hoogeschool, mijn dank betuigen voor de opleiding, welke ik van U genoten heb.

Hooggeleerde Schüffner, na het beëindigen van mijne medische studie hebt Gij mij in Uw laboratorium gastvrijheid geboden en mij in de gelegenheid gesteld dit onderzoek te verrichten. Gij hebt mij zelfstandig doen werken en tevens onafgebroken blijk gegeven van Uwe belangstelling in dezen arbeid. Zoowel de persoonlijke omgang met U als de vele lessen, die ik van U ontving, hebben gemaakt, dat de bewerking van dit proefschrift als een der aangenaamste werkzaamheden in mijne herinnering zal blijven leven. Dat Gij thans mijn promotor wilt zijn, is voor mij de kroon op het werk.

Hooggeleerde Snijders, Swellengrebel en Zeeman, van harte zeg ik U dank voor de hulp, welke Gij mij hebt betoond bij het verrichten en beoordeelen van mijne proeven.

Hooggeleerde Kuenen en Van Loghem, voor het onderricht, dat ik van U mocht ontvangen, ben ik U zeer erkentelijk, terwijl Uwe belangstelling steeds door mij in bijzondere mate op prijs werd gesteld.

Zeer geleerde Raden Soesilo, de samenwerking met U gedurende vele maanden heb ik steeds zeer gewaardeerd. Zoowel Uwe hulp bij mijne proeven als de vele aangename gedachtewisselingen zal ik niet vergeten.

Voor de groote moeite, welke Gij, Mej. Scheffer, U gegeven hebt mij onderzoekingsmateriaal en litteratuur te verschaffen, ben ik U ten zeerste dankbaar.

De medewerking van U, Mej. Hengeveld, heb ik zeer op prijs gesteld.

Voor de zorg aan mijne proefdieren gewijd, betuig ik U, Van den Berg en Hoekstra, mijn welgemeenden dank, terwijl de hulpvaardigheid van U, Wehmann, zeer door mij is gewaardeerd.

INHOUD

Bladz.

INLEIDING 11

HOOFDSTUK I. Rattebeet-ziekte bij den Mensch

A. Ziekte-beeld 13

B. Aetiologie 19

HOOFDSTUK II. Verwekker van de Rattebeet-ziekte

A. Verspreiding onder de Ratten 22

B. Morphologie 27

C. Determinatie en nomenclatuur 37

D. Cultuur-proeven 43

HOOFDSTUK III. Infectie van proef-dieren 45

HOOFDSTUK IV. Immuniteitsreacties 62

SAMENVATTING 73

LITTERATUURLIJST 75

INLEIDING.

Hoewel de rattebeet-ziekte of Sodoku in Nederland een weinig bekende ziekte is, zijn toch enkele gevallen hier waargenomen en nauwkeurig beschreven en is de spirochaeta morsus muris eenmaal bij een zieke aangetoond. Voor zoover wij konden nagaan, is echter nooit een onderzoek gedaan naar het voorkomen van de verwekker van deze ziekte in de ratten van ons land.

Op het Instituut voor Tropische Hygiëne te Amsterdam was in het jaar 1924 een geregelde aanvoer van levende wilde ratten, zoodat wij in de gelegenheid waren een groot rattenmateriaal op de aanwezigheid van de spirochaeta morsus muris te onderzoeken. Wij zijn er inderdaad in geslaagd om bij enkele van deze dieren, zij het dan ook bij een zeer klein percentage, organismen te vinden, welke volkomen beantwoordden aan de beschrijving van de genoemde spirochaet.

De hierdoor verkregen stammen vormden de grondslag voor ons verder onderzoek; een tweetal andere stammen van elders toegezonden veroorloofden ons aan het onderzoek eene grootere uitbreiding te geven. Dit waren, ten eerste, een genuine muizenstam, die Dr. Bonne, Hoofd van het laboratorium van het Nederl. Kanker-Instituut te Amsterdam, toevallig bij de muizen daar ontdekte en ons welwillend afstond; ten tweede een menschenstam uit Londen, afkomstig van een jongen, die aan rattebeet-ziekte leed, welke stam wij aan de vriendelijke bemiddeling van Dr. Joekes te Londen te danken hebben. Deze laatste stam was op muizen overgebracht en werd door Dr. Joekes reeds sinds maanden voortgekweekt.

Wij hebben ons nu tot taak gesteld van deze stammen, oorspronkelijk bij de rat, de muis en bij den mensch gevonden, de algemeene en bijzondere eigenschappen vast te stellen en uit te maken, welke plaats aan deze eigenaardige parasiet in het systeem moet worden toegekend.

Verder hebben wij met behulp van dierproeven en serologische onderzoekingen, voor zoover deze met een parasiet, die nog niet in rein-cultuur te brengen is, mogelijk zijn, nagegaan of de stammen tot één soort behooren of van verschillenden aard zijn.

Wij hebben gemeend aan het verslag van deze proeven eene beschrijving van de ziekte te moeten laten voorafgaan en een kort overzicht te moeten geven van de onderzoekingen, welke over dit onderwerp reeds zijn verricht.

HOOFDSTUK 1.

RATTEBEET-ZIEKTE BIJ DEN MENSCH.

A. Ziekte-beeld.

Het is een algemeen bekend feit, dat de beet van de rat eene verwonding veroorzaakt, die dikwijls met complicaties verloopt. Dit is begrijpelijk als men bedenkt, dat ratten veel op kadavers azen en hun bek dus dikwijls gevaarlijke kiemen bevat, die bij de beet in de wond komen en infectie veroorzaken. In ons land komen betrekkelijk weinig gevallen van rattebeet voor. In Japan echter, waar de levensomstandigheden anders zijn, is de aanraking met ratten veel talrijker en treedt deze verwondig meer op den voorgrond. Het was dan ook in Japan, vele tientallen jaren geleden, reeds aan verschillende onderzoekers opgevallen, dat er bij de gevallen van infectie na rattebeet een groep was, die een scherp omschreven ziektebeeld vertoonde, dat niet paste in het kader van de bekende wond-infecties. Onder den naam van Sodoku wordt deze ziekte in de Japansche litteratuur op het eind van de vorige eeuw herhaaldelijk beschreven en het is dan ook een Japanner, die in de Europeesche litteratuur voor het eerst op deze ziekte gewezen heeft. In de „Mitteilungen aus dem Grenzgebiet der Chirurgie und Medizin", verscheen in 1900 van de hand van Miyake naar aanleiding van elf ziekte-geschiedenissen eene nauwkeurige beschrijving van dit ziekte-beeld. Hij deelt hierin mede, dat in de Europeesche litteratuur deze ziekte nooit vermeld is geworden, hetgeen echter onjuist is. In 1917 heeft Roger[1]) toch gewezen op eene publicatie in de Union Médicale van 1884, waarin Millot Carpentier een geval mededeelt, dat zeker achteraf, gezien het klinisch verloop, met den naam van rattebeet-ziekte bestempeld mag worden.

J. Ashurst[2]) haalt in een artikel over vergiftigde wonden een ziekte-geval aan van Packard, gepubliceerd in 1872, dat eveneens sprekend gelijkt op deze ziekte. Dat ook in Engeland de Sodoku al voor 1900 was waargenomen, blijkt uit de mededeeling van Middleton[3]), waarin hij bericht, dat hij na het lezen van de publicatie van Horder[4]) zich herinnert reeds in 1895 een zelfde ziektebeeld

---

[1]) Presse Médicale 1917.
[2]) Encyclopédie Internationale de Chirurgie 1883 Vol. 1.
[3]) Lancet 1910 pag. 1618.
[4]) Quaterly Journ. of Med. Jan. 1910. bl. 121.

gezien te hebben. Hij heeft toen de diagnose niet gesteld, daar dit beeld hem onbekend was.

Zooals uit verschillende publicaties blijkt, is de rattebeet-ziekte over alle werelddeelen verspreid. Behalve echter in Japan en in Voor-Indië, waar b.v.b. Powell in twintig jaren veertig gevallen van rattebeet-ziekte waarnam, is het voorkomen van deze ziekte toch eene vrij groote zeldzaamheid. Bovendien blijft het nog altijd de vraag of al de ziekte-gevallen, waarin de verwekker, zooals wij dien sinds 1916 kennen, niet gevonden is, werkelijk tot de Sodoku behooren of gevallen van wond-infectie met eene andere aetiologie zijn. Aan den anderen kant is het ook waarschijnlijk, dat er wel telkens gevallen van Sodoku voorkomen, die niet herkend worden, omdat het ziektebeeld slechts aan weinigen bekend is.

In ons land werd het eerst de aandacht op deze ziekte gevestigd in 1918 door Hijmans van den Bergh op de vergadering van de Nederlandsche Vereeniging voor Paediatrie te Groningen [1]) naar aanleiding van een typisch verloopend geval van een meisje van vier jaar. Volgens hem heeft echter een Rotterdamsch chirurg, Dr. Guldenarm, kort na de publicatie van Miyake reeds de diagnose: rattebeet-ziekte bij een patiënt gesteld, zonder dat hij hiervan in de litteratuur melding gemaakt heeft. In het volgende jaar vermeldde van Berckel een geval bij een zuigeling en in 1921 werd door Cornelia De Lange en Wolff het derde geval beschreven. [2]) Van Lookeren Campagne [3]) eindelijk was in 1922 de eerste in ons land, wien het gelukte bij een zieke de verwekker aan te toonen. In 1923 werd door Van Dijk [4]) de diagnose: rattebeet-ziekte bij een jongen gesteld, zonder dat hij in staat was de spirochaeta te vinden. In Nederl.-Indië komt de ziekte een enkele maal voor, zooals blijkt uit de publicaties van Pondman [5]), Bais [6]) en Walch [7]), welke samen vier gevallen vermelden. Wat de oorzaak is, dat in Nederlandsch-Indië, waar toch bij de inlandsche bevolking de aanraking met ratten zeer veelvuldig is, deze ziekte zoo weinig voorkomt, terwijl deze in Japan zoo frequent is, is ons nog onbekend.

---

[1]) Nederl. Tijdschr. v. Geneesk. 1919. I. blz. 633.
[2]) Nederl. Tijdschr. v. Geneesk. 1921. blz. 938.
[3]) Academisch Proefschrift 1922.
[4]) Geneesk. Gids 1923. blz. 307.
[5]) Geneesk. Tijdschr. v. Nederl. Indië 1917. blz. 368.
[6]) Geneesk. Tijdschr. v. Nederl. Indië 1917. blz. 375.
[7]) Geneesk. Tijdschr. v. Nederl. Indië 1923. Afl. 2. Deel 63.

Daar bij al deze onderzoekers het ziektebeeld in groote trekken volkomen overeenkomt met dat van Miyake, zullen wij eene korte beschrijving daarvan aan den laatsten ontleenen.

De beetwond, die meestal weinig gebloed heeft, geneest over het algemeen voorspoedig, zonder eenige behandeling. Na een incubatie-tijd, die in de meeste gevallen een tot drie weken duurt, treedt een aanval van koorts op. Gewoonlijk worden er geen prodromaal-verschijnselen waargenomen, een enkele maal echter treden een tot twee dagen voor de koorts vage verschijnselen als lusteloosheid, moeheid en pijn op de plaats van de beet op. Het voornaamste verschijnsel van den aanval is koorts. Na een koude rilling, die voorafgegaan is door een gevoel van moeheid en pijn in de ledematen, stijgt de temperatuur plotseling snel, terwijl de pols frequent, vol en week wordt. Tegelijkertijd treden spier- en gewrichtspijnen op, dikwijls duizeligheid en hoofdpijn, in zware gevallen zelfs deliriën, sopor en coma. De hoogte van de koorts wisselt van 38,5° tot 41°, de aanval duurt gewoonlijk twee dagen, zelden drie. De temperatuur daalt dan snel, dikwijls gepaard met sterk zweeten. De patiënten voelen zich nu veel beter en hebben de indruk genezen te zijn. De koortsvrije periode duurt gemiddeld drie dagen, waarna weer een snelle temperatuur-stijging, voorafgegaan door eene koude rilling, optreedt. Ook nu daalt de temperatuur na enkele dagen weer snel en zoo verloopt de ziekte in telkens terugkeerende aanvallen, die veelal hetzelfde type vertoonen. Dikwijls verloopt de eerste aanval onder het beeld van eene continua van enkele dagen, soms met een sterk remitteerend koortstype, terwijl in een later stadium de duur van den koorts-aanval korter wordt en ook niet meer zulke hooge temperaturen worden bereikt. De periodiek terugkomende koorts geeft aan de ziekte een bijzonder karakter, dat er op wijst, dat men hier niet met de gewone wondinfectie te doen heeft.

Even belangrijk als de koorts is het exantheem, dat bij deze ziekte zeer zelden wordt gemist. Dit exantheem is blauwrood van kleur en de afzonderlijke erupties zijn rond of onregelmatig van vorm, ½ tot 10 c.M. in doorsnee. In den beginne doen zij zich voor als niet verheven blauwroode vlekken, die later overgaan in slechts weinig verheven, harde papels, scherp begrensd, met een aanduiding van een centrale del. Ook kunnen knobbelige, papuleuse infiltraten in de huid optreden. De maculeuse en papuleuse vorm kunnen naast elkaar voorkomen. Eerst bij sterke druk ver-

dwijnt de blauw-roode kleur. De meest voorkomende localisatie van dit exantheem is op hals, gezicht, rug, buik, borst en extremiteiten. Steeds worden de behaarde hoofdhuid, handpalmen, voetzoolen en slijmvliezen vrij gelaten. Op het einde van de ziekte treedt dikwijls een urticaria-achtig uitslag op, dat volgens sommige schrijvers een prognostisch gunstig teeken zou zijn. Meestal treedt dit karakteristieke exantheem bij den eersten aanval op, dikwijls bij den tweeden of later. Het verdwijnt gewoonlijk tegelijk met de koorts, slechts zelden gevolgd door eene lichte huidschilfering. Indien het eenmaal bij een koortsaanval is opgetreden, komt het bij iederen volgenden weer terug.

De plaats van de beet vertoont ook gedurende het ziekteverloop karakteristieke afwijkingen. Tegelijk met het optreden van de koorts begint de oogenschijnlijk volkomen genezen wond weer pijn te doen en er treedt vrij sterke zwelling op, diffuus of meer circumscript, terwijl de huid blauw-rood gekleurd is. De pijnen kunnen zeer hevig zijn en treden dikwijls aanvalsgewijze met de koorts op. Het ontstoken weefsel voelt hard aan en gaat zelden over in ettering. Soms treedt er necrose op, die echter gewoonlijk tot de huid beperkt blijft en een defect met scherpe randen achterlaat, dat geen neiging heeft zich in de omgeving uit te breiden. Het geneest betrekkelijk snel onder litteeken-vorming. Steeds blijft vele maanden lang eene blauw-roode kleur op de plaats van de beetwond over. De lymphklieren uit het regionaire gebied van de beetwond zijn steeds gezwollen en pijnlijk, afhankelijk van de intensiteit van de wondreactie. Soms verdwijnt de klierzwelling in de koortsvrije periode om bij het optreden van een nieuwe aanval weer duidelijk te worden, soms blijven de klieren onafgebroken gezwollen, onafhankelijk van den koortsaanval. In het begin voelen de klieren week elastisch aan, later worden ze hard. Verettering wordt nooit waargenomen. Dikwijls treedt eene lymphangitis op in het begin van de ziekte, die na eenige dagen spoorloos verdwijnt en ook bij een volgenden aanval niet terugkomt. De urine is gewoonlijk geconcentreerd, bevat echter meestal geen abnorme bestanddeelen. Toch komen ook gevallen met ernstige nephritisverschijnselen voor, waarbij dan algemeene en locale oedemen worden waargenomen. Over het algemeen is gedurende den aanval de digestie gestoord, alle eetlust ontbreekt, soms zijn de patiënten misselijk en hebben maagpijn. Diarrhee zoowel als verstopping kan voorkomen.

Van den kant van het zenuwstelsel worden eveneens typische verschijnselen waargenomen. In zware gevallen treden gedurende den aanval heftige hoofdpijnen, duizeligheid, oorsuizen, verduistering van het gezichtsveld en deliriën op, zelfs sopor en coma komen voor. Dikwijls klagen de zieken over neuralgische en rheumatoide pijnen. Een vrijwel constant verschijnsel zijn de spierpijnen, die het meest in de beenen gelocaliseerd zijn en bij den koortsaanval in hevigheid toenemen, zonder in het koortsvrije interval geheel te verdwijnen. Paresen komen voor in de beenen, de patellaire reflexen geven een zeer wisselend beeld. Stoornissen in de sensibiliteit treden op als paraesthesiën of anaesthesiën, meestal aan de extremiteiten.

Het circulatie-apparaat vertoont weinig karakteristieks. De pols is evenredig met de temperatuur versneld en bij langen duur van de ziekte wordt de hartswerking minder goed en hoort men dikwijls systolische anaemische geruischen aan de punt. Van den kant van de ademhalingsorganen zijn meestal geen abnorme verschijnselen waar te nemen. Over het algemeen zijn milt en lever niet vergroot. Over het bloed-beeld geeft Miyake geene bijzonderheden. Latere onderzoekers doen hieromtrent wel enkele opgaven. Bloedafbraak en bloedregeneratie komen naast elkaar voor, zooals blijkt uit anaemie, urobiline in de urine, lichte anisocytose, polychromatophilie en enkele normoblasten en myelocyten in het bloed. De witte bloedlichaampjes zijn gewoonlijk vermeerderd in aantal, het meest in het begin van de ziekte na het hoogtepunt van de koorts. Over de verdeeling van de witte bloedcellen onderling bestaat bij meerdere onderzoekers verschil van meening. Als vaststaande kan men aannemen, dat in de verschillende periodes van de ziekte, tijdens of tusschen de aanvallen, de samenstelling van het witte bloedbeeld sterk wisselt. Bij het begin van de ziekte tijdens den koortsaanval bestaat volgens sommigen een neutrophiele leucocytose, die tegen het einde van den aanval overgaat in eene mononucleose. Anderen (Walch) vinden de leucocytose eerst kort na het hoogtepunt van de koorts en na afloop van den aanval eene lichte relatieve lymphocytose. Gedurende den aanval zou een vermindering van het aantal eosinophilen optreden, in het interval weer gevolgd door eene toename, terwijl in de reconvalescentie eene duidelijke eosinophilie aanwezig zou zijn. Anderen nemen ook in het interval eene daling van het aantal eosinophilen waar.

Volgens Miyake is de duur van de ziekte in lichte gevallen vier tot vijf weken, in zwaardere twee tot drie maanden, een duur van meer dan een jaar echter is ook voorgekomen. Gevallen, die binnen twee tot drie dagen doodelijk zouden verloopen, kunnen niet tot de rattebeet-ziekte gerekend worden, maar berusten waarschijnlijk op eene infectie van anderen oorsprong. Miyake maakt eene indeeling in drie groepen:

1. febriele vorm met exantheem;
2. afebriele vorm met overwegend zenuwsymptomen; { A. Acuut. B. Chronisch.
3. abortieve vorm.

De eerste groep komt het meeste voor. De tweede groep is zeer zeldzaam en bovendien berusten de sub A. ondergebrachte gevallen waarschijnlijk op andere infecties. De chronische afebriele vorm is slechts in Japan beschreven, evenals de abortieve vorm.

Zware gevallen verloopen onder toenemende cachexie doodelijk. Miyake geeft 10,5 % mortaliteit op, volgens andere onderzoekers is de prognose niet zoo ongunstig, deze geven 2 tot 3 % mortaliteit op.

Tegen deze ziekte zijn in vroegere jaren talrijke middelen, zoowel plaatselijk als algemeen aangewend en de meest zonderlinge opgaven kan men hieromtrent in de litteratuur vinden. Geen van deze middelen had een noemenswaardige invloed op het verloop van de ziekte. Een uitzondering maakten, zooals men reeds vroeg opmerkte, de As-preparaten, die tegen de anaemie gegeven werden. In 1912 heeft Hata [1]) salvarsan als therapeuticum toegediend en ondervonden, dat dit als zoodanig zeer doeltreffend was. Na een injectie verdwenen dikwijls de aanvallen voorgoed en was de patient genezen. Daarna werd de gunstige werking herhaaldelijk door anderen bevestigd, zoodat de Sodoku onder de chemotherapeutisch te beïnvloeden ziekten kon worden opgenomen. Toch komen soms recidieven voor en daarom wordt meestal eene serie injecties intraveneus toegediend. Het gebeurt zeer zelden, dat een patient met deze behandeling niet geneest, de mortaliteit is sindsdien dan ook sterk verminderd. In hetzelfde jaar zag Proescher [2]) genezing na subcutane injectie van ½ gram arsacetine.

---

[1]) Münch. Med. Wochenschr. 1912, blz. 854.
[2]) Berl. Klin. Wochenschr. 1912, blz. 841.

B. Aetiologie.

Dat de beet van eene rat somtijds de bovenbeschreven ziekte ten gevolge had, was een bekend feit. Er zijn echter ook ziektegevallen beschreven met het verloop van de rattebeet-ziekte, die optraden in aansluiting aan den beet van een kat, een fret en een wezel, dieren, die, zooals bekend is, rattenverdelgers zijn. Wat bij den beet van deze dieren en van de ratten gebeurde, is iets, waar vele jaren naar gezocht is en waarover talrijke veronderstellingen zijn gemaakt. Door sommigen is de meening geopperd, dat opgejaagde ratten een gift produceeren en slechts de beet van deze gevaarlijk zou zijn. Miyake denkt aan dolle ratten en wil de ziekte met rabies vergelijken. Hij meent, dat een gezonde rat een mensch in den slaap niet zou aanvallen, hetgeen echter door feiten uit verschillende ziektegeschiedenissen wordt tegengesproken. Bovendien zijn nergens aanwijzingen te vinden, dat de ratten, die den beet veroorzaakten, anders waren dan gewone ratten.

Ogata [1]) heeft bij een patiënt met Sodoku in het bloed, in lymphklieren en in het afschraapsel van een ulcus op de plaats van den beet sporozoën gevonden. Met een geëxtirpeerde lymphklier heeft hij caviae geënt, die zwelling op de entplaats kregen en lymphklierzwelling. Op enkele na stierven deze tusschen drie weken en drie maanden na de infectie. Ook een cultuur van deze sporozoën op gestold serum was voor caviae doodelijk. Hij geeft teekeningen van de verschillende ontwikkelingsstadia en meende zelfs een geheelen cyclus daarvan te kunnen opstellen.

Shikami bevestigde het volgende jaar deze vondst en kon eveneens door enting met bloed van een patient, dat haemosporozoën bevatte, een cavia infecteeren, die na eenigen tijd dezelfde organismen in het bloed vertoonde.

In 1913 deelt Ogata [2]) mede, dat hij na onderzoek van elf gevallen tot de conclusie komt, dat de verwekker van de rattebeet-ziekte een aspergillus-soort is en niet tot de sporozoën behoort. De ziektegeschiedenissen laten zien, dat het koortsverloop niet typisch is, zoodat wij niet veel waarde aan deze vondsten kunnen hechten.

Verder vonden wij nog eene mededeeling van Proescher, die bij een typisch verloopend geval in punctie-vloeistof van de beet-

---

[1]) Deutsche Med. Wochenschr. 1908, blz. 1099.

[2]) Mitt. A. D. Kaiserl. Univers. Tokyo, 1913, blz. 179.

wond met Giemsa kleurbare vormsels vond, die hem aan protozoën herinnerden. Hij entte weefsel van de beetwond bij een cavia, die na drie weken een hard infiltraat op de entplaats kreeg met zwelling van de regionaire klieren. Het infiltraat ging ulcereeren en de lymphklieren bleven gezwollen. Na zes weken traden op verschillende plaatsen huid-necrosen op en vielen de haren uit. Het dier, dat na zeven weken gedood werd, vertoonde, behalve lichte zwelling van de inguinale klieren en lichte miltvergrooting, geen afwijkingen. Met Giemsa-kleuring werden in de lymphklieren dezelfde vormsels gevonden als in de beetwond, evenwel in grooter aantal. Daar dit beeld bij de cavia veel overeenkomst heeft met het ziekteverloop na experimenteele infectie met den verwekker van de rattebeet-ziekte, zooals wij dit later zullen beschrijven, meenen wij, dat het waarschijnlijk is, dat Proescher inderdaad de cavia met den verwekker van de rattebeet-ziekte heeft geïnfecteerd, maar deze niet heeft kunnen aantoonen en dat de vormsels, die hij beschrijft, op menginfectie berusten, of celfragmenten of kunstproducten zijn.

Schottmüller [1]) kon bij een patient, die na een rattebeet ziek was geworden met koorts en een roseola-achtig exantheem, uit het bloed een streptothrix kweeken. Hij noemde deze de streptothrix muris ratti. Ook zag hij eene eigenaardige ziekte met koorts, gewrichtspijnen, rood-blauwe vlekken en een haemorrhagisch op mazelen lijkend exantheem, gevolgd door een septisch exantheem bij een patient, die door een eekhoorn was gebeten. Uit het bloed van deze zieke kon hij een streptothrix kweeken, de streptothrix taraxeri cepapi. Schottmüller meent, dat deze beide gevallen analoog zijn met de rattebeet-ziekte. Daar echter in beide gevallen het koortsverloop geen overeenkomst heeft met de zoo karakteristieke temperatuurlijn bij Sodoku, meenen wij, dat hier sprake is geweest van eene streptothrix-infectie in aansluiting aan of ten gevolge van den beet van een rat resp. eekhoorn en dat deze ziekte verder niets te maken heeft met de rattebeet-ziekte. Ook Blake [2]) heeft uit het bloed van een patient, die na een rattebeet ziek was geworden, een streptothrix gekweekt, de streptothrix muris ratti. De temperatuur-curve van dezen patient, die op den zestienden dag van den aanval stierf, is evenmin typisch voor rattebeet-ziekte. Bij den aanval trad een exantheem op, dat volgens de beschrijving

[1]) Dermatologische Wochenschr. 1914. Ergänzungsheft, blz. 77.
[2]) Journ. of Exp. Med. 1916, blz. 39, XXIII.

wel overeenkomst heeft met dat van typisch verloopende gevallen van Sodoku. Bij de sectie bleek een endocarditis te bestaan, die door dezelfde streptothrix veroorzaakt was. Deze streptothrix is slechts weinig pathogeen voor konijnen en witte ratten en niet pathogeen voor caviae. Het bloedserum van den patient bevatte agglutininen tegen de eigen stam. Het is natuurlijk zeer goed mogelijk, dat een streptothrichaemie optreedt in aansluiting aan een rattebeet, want het voorkomen van dit organisme is bij bronchopneumoniën van ratten aan te toonen. De mogelijkheid bestaat, dat hier sprake is geweest van eene menginfectie, want het eigenaardige exantheem doet vermoeden, dat hier ook rattebeet-ziekte in het spel is geweest. Tunnicliff en Mayer [1]) vonden bij een doodelijk verloopend geval in het bloed de streptothrix putorii. Ook in dit geval bestond eene eruptie van blauw-roode, scherp-omlijnde vlekken. Geen van deze gevallen met streptothrix-infectie vertoont echter het typische koortsverloop van de meestal vrij langdurige Sodoku.

Door de goede werking van salvarsan rees het vermoeden, dat de rattebeet-ziekte eene ziekte was, die door spirochaeten veroorzaakt werd.

In 1915 ontdekten Futaki, Takaki, Taniguchi en Osumi [2]) in een stuk huid met exantheem van een zieke met Sodoku een spirochaet. In het punctaat van de gezwollen lymphklieren konden zij deze gemakkelijk aantoonen. Het kostte daarentegen zeer veel moeite de spirochaet in het bloed te vinden, hetgeen begrijpelijk is, daar zij hierin slechts sporadisch voorkomt. Het gelukte hun apen te infecteeren, die een ziektebeeld vertoonden, dat zeer veel geleek op dat van den mensch. Muizen, witte ratten en caviae waren eveneens gemakkelijk te infecteeren, vertoonden echter een ziektebeeld, dat geen overeenkomst met dat van den mensch inhield. Sindsdien hebben tal van onderzoekers deze spirochaet bij hunne patienten met rattebeet-ziekte gevonden en daarmede dieren kunnen infecteeren. Wij mogen dus als vaststaand aannemen, dat het organisme, hetwelk Futaki c.s. de spirochaeta morsus muris noemden, inderdaad de verwekker van de rattebeet-ziekte is.

---

[1]) Journ. of Inf. Diseases 1918, blz. 555.

[2]) Journ. of Exper. Medic. 1916, blz. 249. XXIII.

HOOFDSTUK 2.

DE VERWEKKER VAN DE RATTEBEET-ZIEKTE.

A. Verspreiding onder de ratten.

Daar de Sodoku in haar typischen vorm bijna steeds voorafgegaan wordt door de beet van eene rat, bestond reeds lang voor de ontdekking van de spirochaeta morsus muris het vermoeden, dat een specifieke ziekteverwekker onder de ratten zou voorkomen, die door de beet wordt overgebracht. Spoedig na de ontdekking van de spirochaet door Futaki c.s. kwam in Maart 1916 eene publicatie van Ishiwara, Ohtawara en Tamura [1]), die ongeveer tegelijkertijd als Futaki c.s. de spirochaet hadden gevonden. Zij deelden mede, dat het hun gelukt was caviae ziek te maken door ze door ratten te laten bijten. Bij een van deze ratten vonden zij in het bloed een spirochaet, die volkomen gelijk was aan die bij patiënten gevonden. Het gelukte hun echter niet in den bek van deze ratten deze spirochaet te ontdekken.

Na 1916 zijn in het bijzonder in Japan systematische onderzoekingen naar deze organismen onder de ratten gedaan. Zoo vinden wij de volgende cijfers, welke aantoonen, dat in Japan een vrij groot aantal ratten geïnfecteerd is, Ishiwara geeft 11,2 %, Matsuzaki 5,9 %, Tsuneoka 13,8 % en Kusama 8,3 % op. In Europa zijn niet zulke uitgebreide onderzoekingen over het voorkomen van deze spirochaet gedaan. Coles vond toevallig bij een onderzoek van 100 ratten uit Londen en omgeving een, die een spirochaet in het bloed had, die ongeveer overeenkomt met de spirochaeta morsus muris. In Mexico vond Mooser bij een van twintig ratten een „spiral organism", dat beantwoordde aan de beschrijving van de spirochaet van Futaki.

Daar bij de geïnfecteerde ratten de spirochaeten wel in het bloed maar nooit in het speeksel konden worden aangetoond, bleef het nog steeds de vraag, hoe de infectie dan bij den beet werd overgebracht. De meeste onderzoekers nemen aan, dat bij het bijten eene kleine laesie in het tandvleesch ontstaat, waaruit een weinig bloed komt, door welk bloed dan de infectie zou worden overgebracht. Aan Kusama, Kobayashi en Kasai [2]) is het eenmaal gelukt om met speeksel van een rat, verkregen door uitspoeling van den bek met eene physiologische zout-oplossing eene muis te infecteeren.

[1]) Journ. of Exp. Med. 1917, blz. 45. XXV.

[2]) Journ. of Infect. Diseases 1919, blz. 366.

Zooals zij zelf reeds mededeelen, kan dit geenszins als bewijs gelden voor het voorkomen van deze spirochaet in het speeksel, want bij het spoelen kan natuurlijk gemakkelijk eene verwonding ontstaan, zoodat deze spirochaeten toch ook weer uit het bloed afkomstig zouden zijn. Bij experimenteel geïnfecteerde caviae, die eveneens door den beet de infectie zouden kunnen overbrengen, werd bij de sectie eene invasie van spirochaeten gezien in mond- en neusslijmvlies en submucosa. Door sommige onderzoekers wordt aangenomen, dat van uit de submucosa bij de kleinste verwonding reeds de spirochaeten in het speeksel komen en op deze wijze de infectie wordt overgebracht.

Eene andere meening omtrent de overbrenging van deze ziekte wordt door Mooser [1]) voorgestaan. Hij infecteerde caviae en witte ratten met spirochaeten, die hij in het bloed van een wilde rat had gevonden. Bij deze dieren zag hij bijna steeds na eenigen tijd conjunctivitis en keratitis optreden en in het conjunctivaal secreet kon hij deze spirochaeten aantoonen. Hij meent nu, dat het vocht uit de conjunctivaalzak door het traankanaal in den neus komt en uit den neus door de gespleten bovenlip bij den beet in de wond overgaat. De beet van een rat zou dan alleen infectieus zijn, indien het dier tevens conjunctivitis had en zonder deze complicatie zou het niet mogelijk zijn, dat de infectie werd overgebracht, ook al waren er spirochaeten in het bloed aanwezig. Hij geeft zelfs op, dat caviae ziek werden door infectie met conjunctivaal secreet van ratten, wier bloed geen spirochaeten meer bevatte. Deze proeven zijn echter door niemand nog bevestigd.

In September 1924 zijn wij begonnen de ratten, die uit verschillende stadsgedeelten van Amsterdam en van schepen uit de havens afkomstig waren, te onderzoeken op de aanwezigheid der spirochaeta morsus muris. Van iedere rat werd het bloed in het donkere veld nagezien, meestal ter contrôle door twee personen. Vervolgens werd van het bloed een dikke druppel preparaat gemaakt, dat met Giemsa werd gekleurd. Het vocht uit de conjunctivaal-zak en uit den neus en het speeksel werden in het donkere veld onderzocht. Daarna lieten wij de rat in een poot van een

---

[1]) Journ. of Exp. Med. 1924, blz. 589. XXXIX.

cavia bijten. [1]) De caviae, die gebeten waren, werden meerdere weken in observatie gehouden. Dagelijks werd de temperatuur opgenomen en het bloed werd geregeld op spirochaeten nagezien. Indien na ongeveer drie weken geen zwelling van den gebeten poot meer bestond en er geen verschijnselen van koorts waren, werd het bloed van deze caviae bij muizen ingespoten, om, indien een geringe infectie met spirochaeten aanwezig mocht zijn, deze door de grootere gevoeligheid van de muis te kunnen aantoonen. Bij geen van deze caviae, waarbij het bloedonderzoek negatief was gebleven, is het gelukt door deze methode de spirochaeten toch te vinden. Op deze wijze zijn in het geheel tweehonderdvijftig ratten onderzocht. Hieronder waren vijftien mus rattus, de overige waren decumanus, bijna alle volwassen exemplaren. Bij drie van deze dieren namelijk, een decumanus van de Mauritskade, een decumanus van het Abattoir en een rattus van een schip op Zuid-Amerika, is het ons gelukt bij het onderzoek van het bloed in het donkere veld spirochaeten aan te toonen, die beantwoordden aan de beschrijving van de spirochaeta morsus muris. Behalve in het donkere veld waren zij ook in de dikke druppel te vinden. Daar het onderzoek in het donkere veld het gemakkelijkste was en volgens onze meening bij eenige routine voldoende zekerheid gaf, werd na de honderd twee en vijftigste rat geen dikke druppel preparaat meer gemaakt.

Bij geen van deze drie ratten was een spoor van conjunctivitis of keratitis waar te nemen en in het oog- en neussecreet, noch in het speeksel konden wij bij herhaald onderzoek deze spirochaeten vinden. Wel werden in het speeksel van het grootste deel van de ratten spirochaeten gevonden, die veel geleken op de spirochaeta dentium, maar nooit werd een spirochaeta morsus muris aangetroffen. Van de tien caviae, die door de geïnfecteerde ratten zijn gebeten, zijn er vier ziek geworden, waarbij ook later de spirochaet in het bloed werd aangetroffen. Elk van de drie ratten bleek in staat te zijn door den beet een cavia ziek te maken. Hier is dus de

[1]) Deze bijtproeven gingen soms met veel moeite gepaard. Een gedeelte van de ratten was op een gegeven oogenblik niet tot bijten te brengen, zelfs niet indien zij opgehitst werden of na 24 uur vasten. Het bleek echter, dat diezelfde dieren eenige dagen later zonder moeite wilden bijten. Een verdeeling in twee groepen: ratten, die wel en ratten, die niet bijten, zooals Ishiwara dit doet, kan dus niet worden gemaakt. Vooral uit epidemiologisch oogpunt is dit van belang, want uit onze proeven blijkt, dat alle ratten voor de overbrenging van deze ziekte in aanmerking komen.

infectie door den beet van ratten overgebracht, die geen conjunctivitis of keratitis hadden, in wier speeksel, neus- en oogsecreet de spirochaeta morsus muris niet aanwezig was, deze echter wel in het bloed herbergden, zij het dan ook in gering aantal. Deze uitkomsten zijn bijgevolg in strijd met de vondsten van Mooser, die meent, dat conjunctivitis noodig is om de infectie over te brengen.

Het bloed van deze ratten werd geregeld nagezien en het viel ons op, dat het aantal spirochaeten bij een en dezelfde rat bij tijden wisselde. Op een gegeven oogenblik waren reeds bij een vluchtig onderzoek meerdere exemplaren in een gezichtveld waar te nemen, terwijl op andere tijden bij een zelfs zeer nauwkeurig en langdurig zoeken slechts een, soms geen enkele in het heele preparaat te vinden was. Toch waren er dan nog wel spirochaeten in het bloed aanwezig, want dit bloed bij muizen ingespoten was in staat deze te infecteeren.

De beide decumanus hebben zeer lang de spirochaeten in het bloed gehouden. Bij de rattus waren zij na twee weken niet meer aan te toonen, na drie weken echter was het bloed toch nog infectieus voor een muis. Na 2 maanden stierf deze rat, terwijl er bij de sectie geen bijzonderheden voor den dag kwamen.

Daar er bij deze rat ook eene zeer sterke infectie met trypanosoma lewisi bestond, is het misschien mogelijk, dat hierdoor de spirochaeten-infectie op den achtergrond is geraakt.

Een van de twee decumanus is na drie maanden gestorven. Bij de sectie was een groot abces in de borstholte aanwezig, waarin diplococcen waren, die veel geleken op pneumococcen. Verder waren er geene afwijkingen te vinden, spirochaeten konden niet meer worden aangetoond. De andere decumanus leeft na 145 dagen nog en heeft nog steeds spirochaeten in het bloed.

In de urine van deze ratten zijn nooit spirochaeten gevonden, zij maken niet den indruk ziek te zijn of bijtlustiger dan andere, hetgeen door sommige onderzoekers beweerd wordt.

Zooals wij boven reeds mededeelden, zijn van de tien caviae, die door de geïnfecteerde ratten gebeten zijn, vier ziek geworden in aansluiting aan dezen beet. Van de overige zes kregen drie zwelling van den gebeten poot, die na eenige weken weer afnam. Verder traden bij deze dieren geen ziekteverschijnselen op en werden er ook geen spirochaeten in het bloed gevonden. De drie andere caviae van deze groep stierven vrij snel na den beet aan een intercurrente pseudotuberculosis rodentium.

De caviae, die gebeten zijn door ratten, waarbij wij noch in het bloed noch in het speeksel, neus- of oogsecreet op de spirochaeta morsus muris gelijkende organismen hadden gevonden, zijn toch door ons voor alle zekerheid nauwkeurig geobserveerd, omdat ons een minimale infectie zou kunnen ontgaan zijn. Van deze caviae stierven er vier vrij spoedig na den beet. Bij de sectie bleek, dat een phlegmone in aansluiting aan de beetwonde de vermoedelijke doodsoorzaak was. Ook de pseudo-tubercolusis rodentium maakte enkele slachtoffers onder deze caviae, die spoedig, nadat zij gebeten waren, stierven. De overige zijn gezond gebleven en hebben behoudens eenige reactie op de plaats van den beet geen ziekteverschijnselen vertoond.

Hoe de verspreiding van deze spirochaet onder de ratten in de natuur geschiedt, is niet in het bijzonder nagegaan, maar alles wijst er op, dat de overbrenging ook hier door den beet zal plaats hebben. Proefondervindelijk is dit ook nog aangetoond. Tweemaal hebben wij nl. gezonde ratten door geïnfecteerde laten bijten en de infectie is op deze wijze eenmaal op een volwassen wilde rat overgebracht. Er is dus weinig reden andere wijzen van besmetting aan te nemen, b.v. door geïnfecteerde urine. Wij hebben nooit, Kusama, Kobayashi en Kasai [1]) slechts een enkele maal uitscheiding van spirochaeten met de urine bij ratten waargenomen. Ook zij hechten weinig waarde hieraan voor de overbrenging. Dat insecten overbrengers van deze ziekte zouden zijn, ligt evenmin voor de hand. Kusama en Kobayashi zagen, dat, indien bij meerdere gezonde dieren een besmet in dezelfde kooi werd gezet, na eenigen tijd slechts een enkel van de gezonde geïnfecteerd was. Zij concludeeren hieruit, dat het niet aannemelijk is, dat de overdraging plaats heeft door insecten, want dan zouden waarschijnlijk meerdere dieren in dezelfde kooi aangetast zijn. In ons laboratorium stonden de draadkooien van de geïnfecteerde ratten gedurende meerdere maanden tusschen de kooien van de gezonde. Er bestond dus gelegenheid te over, dat de vlooien en andere insecten van de besmette ratten bij de andere kwamen; nooit is echter een van de gezonde ratten bij later onderzoek door ons geïnfecteerd gevonden.

Naar alle waarschijnlijkheid kan de beet van een kat, fret of wezel daardoor infectieus zijn, doordat deze dieren op dezelfde

---

[1]) Journ. of Infect. Diseases 1919, blz. 366.

wijze als de ratten dragers zijn, hoewel ook de mogelijkheid bestaat, dat zij volkomen gezond zijn en slechts in hun bek deze spirochaeten, afkomstig van een besmette rat, herbergen. Ook bij muizen, zoowel bij de veldmuis als bij de witte muis, komt een spirochaet voor, die morphologisch gelijk is aan de spirochaeta morsus muris. In een volgend hoofdstuk hopen wij terug te komen op de vraag of dit organisme identiek is met de spirochaeta morsus muris of slechts na hieraan verwant.

Van Dr. Bonne, Hoofd van het Laboratorium van het Nederl. Kankerinstituut te Amsterdam, kregen wij eene witte muis te onzer beschikking, die spirochaeten in het bloed had, morphologisch gelijk aan de spirochaet van de rattebeet-ziekte. Dit organisme werd bij de kanker-overentingen van muis op muis steeds mee overgebracht, maar ook met bloed alleen waren zeer goed muizen te infecteeren, zonder dat daarmede ooit ook kanker werd ingeënt. Een speciaal verband met de tumorvorming bestaat dus hierbij niet. Hoewel morphologisch deze spirochaeten volkomen overeenkwamen met die, welke wij bij de ratten gevonden hadden, deden zich bij de dierproeven wel enkele verschillen voor, welke wij later zullen bespreken. Uit het Kankerinstituut werd ons medegedeeld, dat daar bij onderzoek van 162 gezonde muizen twee met deze spirochaeten besmet waren gevonden. In verband hiermede werd het bloed van de witte muizen, voordat zij door ons als proefdieren werden gebruikt, op spirochaeten onderzocht; wij konden echter bij 116 muizen geen enkel geïnfecteerde vinden.

B. Morphologie.

Van de spirochaet, welke Futaki c.s. aantoonden bij een lijder aan rattebeet-ziekte, geven zij de volgende beschrijving.

„The spirochete consists of a body and flagella. In stained film „preparations of the blood of a patient or inoculated animal, the „body is spiral and comparatively short and thick. The size varies „from 1½ to 2 to 5 to 6 μ; when the flagella at both ends are „included, the length is 6 to 10 μ. Smaller bodies are found in „the blood in greater numbers than large ones, while in lymph „nodes slightly larger ones occur. In cultures still larger ones „measuring up to 12 to 19 μ have sometimes been observed; „but minute ones of 1½ to 2 μ also appear.

„In our previous report we stated that the organism in the „patients lymph nodes was somewhat larger than spirochaeta „pallida, but smaller than spirochaeta duttoni and obermeieri. It is „thicker also than spirochaeta pallida and presents usually one „curve per micron, the curves being regular and sharp. The „number of curves ranges from one and a half to six; occasionally „ten to nineteen curves appear. Other exceptions are as follows: „in cultures the angle of the curves is obtuse; some spirochaetes „show one curve in 2 μ. In rare instances, especially in cultures „in which degeneration quickly occurs, the curves become „irregular. The characteristics are the same whether living pre- „parations or stained films are studied. An undulating membrane „has not been found. The protoplasm stains equally well, regardless „of the stain used. The ends of the body gradually become pointed „and pass into the slender flagella. In most cases flagella project „from both ends; sometimes from one only. Rarely two flagella „occur at one end. The flagella have approximately the same „thickness and measure 2 to 3 μ.

„Staining. — The spirochaetes stain readily. Giemsa's stain, „Löffler's methylene blue, Ziehl's solution, and aqueous gentian „violet all stain the organism readily. They are, however Gram- „negative. Silver impregnation succeeds easily. The flagella may „or may not become stained with Giemsa's stain or silver solution. „India ink, used according to Burri, is very effective in revealing „the flagella. With Giemsa's stain the bodies take a deep violet „red coloration. Levaditi's method of silver impregnation is most „suitable for demonstrating the presence of the spirochaete in „the tissues. By this method the bodies appear thick and the curves „sharper, giving the organism spindle-like appearance. In this case „the spirochaetes can be distinguished only by means of the „flagella which assume a yellowish brown colour. In some culture „orgnanisms one or more chromatin bodies have been detected „by means of Giemsa's stain.

„Locomotion. — Usually it is difficult to find the spirochaetes „in the blood or in the lymph of patients even by means of dark- „field illumination, as the number is small. Recently however, we „observed in one case out of five spirochaetes in blood from the „punctured skin. We have, on the other hand experienced difficulty „in finding the organisms in thick blood preparations made accord- „ing to Koch's method. In the inoculated mouse it is not unfrequent

„to find from one to five spirochaetes in a single field of blood or „lymph. Hence the number of spirochaetes is far less than in other „spirochaetal infections communicated to animals.

„The light refraction is weak and the motion is like that of a „vibrio. The organism moves rapidly across the field of vision; „but the cultivated spirochaetes with long bodies are, on the „contrary, inactive, making only wriggling movements.

„Movements may be clearly discerned in specimens studied „according to Shimamine's method. The agar medium, after having „been dissolved and cooled to 45° C., is mixed with fresh blood „containing spirochaetes. This mixture is placed under a coverglass „and the spirochaetes can be seen fixed in agar; capillary pre-„parations are then made. The movements are spasmodic, usually „spiral, and freely pass backwards and forwards. Comparatively „long organisms undergo flexion and rotation. Meanwhile, „whipping, winding, stretching, and darting motions of the „flagella can be seen. When the bodies are very small it is often „impossible to distinguish the various movements. The spiro-„chaetes examined microscopically under a strong light become „quiescent comparatively soon. In animal blood at a temperature „of 22—37° C. it ceases to move in about 24—48 hours. In this „condition it is not recognisable under the dark field microscope."

Latere onderzoekers geven beschrijvingen van deze organismen, die op meerdere punten hiervan afwijken. Row[1]) heeft in Voor-Indië talrijke gevallen van rattebeet-ziekte waargenomen en bij de meesten van zijne patienten vond hij eene spirochaet, die wel eenige verschillen vertoont met die van Futaki. Hij vond namelijk alleen korte vormen van twee tot drie μ lang, bestaande uit twee spiralen. De langere vormen hadden alle een dunne plek in het midden en waren deelingsvormen. Het gelukte hem niet met de kleuring volgens Fontana-Tribondeau flagellen bij deze organismen aan te toonen, evenmin zag hij ooit flagellen in het donkere veld. Hij noemt dit organisme de spirochaeta petit. Wij zullen hier later nog op terugkomen.

Joekes vond in het begin van eene infectie alleen kleine exemplaren. Bij oudere vormen zag hij een toename in

[1]) Ind. Journ. of Medic. Research 1917, V, blz. 386.

grootte en dikte. Door Kitakawa [1]) worden de vormen, die hij bij proefdieren zag, verdeeld in twee types, het eene actief en het andere langzaam. Eveneens zag hij verschil in de uiteinden, sommige zouden scherp zijn, andere stomp. Kitagawa en Mukoyama [2]) hebben lymphklieren van een patient bij verschillende proefdieren geënt en vonden, dat bij de caviae grootere exemplaren voorkwamen dan bij de witte ratten. Zij vragen zich af of dit verschil in grootte afhankelijk is van het verschil in proefdier. De groote vormen zouden dan overeenkomen met die van Futaki van 5 tot 6 μ lang. De teekeningen, die zij van deze verschillende vormen geven, zijn geen bewijs voor hunne bewering, aangezien de bedoelde verschillen uit deze niet duidelijk blijken. Eene onderscheiding in groote vormen van 6 tot 10 μ en kleine vormen van 1,7 tot 5 μ wordt ook gemaakt door Kaneko en Okuda [3]) bij spirochaeten afkomstig van doodelijk verloopende gevallen. Bovendien vinden zij, dat de windingen niet altijd regelmatig zijn en er ook een verschil in graad van stugheid van het lichaam bestaat bij diverse exemplaren. Zij meenen, dat de korte stugge lichamen voorkomen in die gevallen, waarin geen immuun-lichamen zijn gevormd, terwijl, indien er vorming van antistoffen heeft plaats gehad, meer de lange, onregelmatige exemplaren op den voorgrond treden.

Futaki c.s. hebben verschillende kleur-methodes gebruikt en zagen, zooals boven vermeld is, met de gewone Giemsa-methode dikwijls ook de flagellen gekleurd, steeds aan ieder uiteinde een, met uitzondering van een geval, waar zij twee flagellen aan een einde aantroffen. In 1921 beschrijft Adachi [4]) eene kleur-methode, waarbij hij steeds aan beide uiteinden meerdere flagellen te zien krijgt. Hij fixeert de preparaten 30 tot 60 seconden in dampen van osmiumzuur en kleurt dan met de oplossing van Akashi (een gemodificeerde Giemsa-oplossing) en alkali. Des te beter kleuring des te meer flagellen kon hij aantoonen. Hij zag zelfs zeven flagellen aan een uiteinde, terwijl er daarnaast vormen voorkwamen met slechts een flagel aan iederen kant. Bij lange exem-

---

[1]) Saikingaku Zasshi 1916, no. 249, blz. 75. Ref. Trop. Diseas. Bull. 1917, IX, no. 9.

[2]) The Archives of Intern. Medic. XX, blz. 317.

[3]) Journ. of Exper. Medic. 1917, blz. 363, XXVI.

[4]) Journ. of Exper. Med. 1921, blz. 647, XXXIII.

plaren trof hij soms een of twee flagellen in het midden of dicht bij het midden van het lichaam aan, terwijl het dan op die plaats dun en dikwijls licht gebogen was. Hij beschouwt dit als een beginnende transversale deeling. Joekes deelt mede, dat hij met de gewone Leishman-methode ook duidelijk meerdere zweepdraden aan ieder uiteinde kon aantoonen. De Giemsa-kleuring liet volgens Deetjen, bij de organismen, die hij bij de kankermuizen vond, nu eens de flagellen duidelijk aan den dag komen, dan weer werden zij in het geheel niet gekleurd. Het onderzoek in den dikken druppel is ter vereenvoudiging door vele onderzoekers toegepast. Van Lookeren Campagne zegt, dat bij deze behandeling de spirochaeten sterk gelaedeerd worden, zoodat zij nauwelijks herkenbaar zijn. Walch daarentegen geeft aan, dat hij op deze wijze zeer goede resultaten verkrijgt. Met de Burri-methode is, zooals talrijke onderzoekers mededeelen, aan ieder einde slechts een flagel waar te nemen. Met de zilver-impregnatie volgens Fontana-Tribondeau is het lichaam van de spirochaet dikker dan met de Giemsa-kleuring en dikwijls vindt men dan ook opgegeven, dat met deze methode de spirochaet opzwelt. De flagellen kleuren zich hierbij licht bruin; men ziet echter nooit meer dan een zweepdraad aan ieder einde. Het onderzoek in het donkere veld is volgens de meeste schrijvers eene eenvoudige methode om de spirochaeten op te sporen. Het kost hierbij ook geen moeite de zweepdraden te zien. Zelfs deelt Marg. Zuelzer[1]) mede, dat zij, indien zij werkte met een heel goed donker veld, meerdere zweepdraden aan een uiteinde kon waarnemen. Andere onderzoekers hebben dit echter niet bevestigd. Zij geeft als kleurmethode aan de bekende zweepdraadkleuringen, waarmede zij steeds meerdere flagellen aan ieder einde heeft kunnen aantoonen. Nadere aanwijzingen hieromtrent hebben wij niet gevonden. Voor het zichtbaar maken van de spirochaeten in de weefsels wordt steeds gebruik gemaakt van de zilverimpregnatie volgens Levaditi, waarbij zij als zwarte organismen aan den dag komen. Daar de spirochaeten slechts in gering aantal in de weefsels voorkomen, kost het dikwijls zeer veel moeite ze te vinden. Van Lookeren Campagne kon niet dan na langdurig zoeken enkele exemplaren aantoonen, terwijl het aan Walch bij ongetwijfeld geïnfecteerde dieren in het geheel niet gelukte.

---

[1]) Central Blatt f. Bact. Originale Band 85, 1921, blz. 154.*

Eigen Onderzoek. — Daar de stammen, welke wij onderzocht hebben, morphologisch geen verschillen vertoonden, zullen wij volstaan met een gemeenschappelijke beschrijving van deze organismen. Wij hadden te onzer beschikking drie stammen van Amsterdamsche ratten afkomstig, een stam van een muis van het Kankerinstituut en een stam geïsoleerd uit een patient uit Londen.

In het levende preparaat bij gewone belichting is de spirochaet waar te nemen als een weinig lichtbrekend organisme met aan ieder uiteinde snel bewegende zweepdraden. Meerdere bijzonderheden komen in het donkere veld aan den dag. Wij zien dan bij sterke vergrooting een duidelijk lichtend organisme met een lichaam bestaande uit meerdere windingen en aan beide uiteinden een snel heen en weer slaande flagel. Het lichaam is vrij dik, zoodat het geheel een stijven en gedrongen indruk maakt. Wij merkten op, dat zeer langzaam roteerende exemplaren zich nu eens onmiskenbaar als spiralen voordeden, dan weer bij verder draaien als staven, daarna weer als spiralen verschenen. Dit is slechts te verklaren, indien men aanneemt, dat het lichaam niet kurketrekkerachtig gevormd is, maar dat de windingen slechts in een vlak liggen.

De dikte bedraagt ongeveer 1 μ; de afstand van de windingen is eveneens 1 μ en de diepte van iedere winding is ongeveer een halve μ. De lengte van het lichaam hangt af van het aantal windingen, die varieeren van twee tot zeven in getal. Soms zijn er exemplaren van slechts anderhalve winding. Bij onze dieren varieert de lengte dus van 1,5 tot 7 μ. Nooit werden door ons exemplaren van 10 μ waargenomen. Bij vormen van 6 en 7 μ lang zagen wij dikwijls in het midden eene dunne plek en wij meenen, dat dit reeds deelingsvormen zijn. Inderdaad hebben wij in het donkere veld eenige malen deze transversale deeling zich zien voltrekken. Op de dunne plaats deelde het lichaam zich in tweeën en de beide nieuwe organismen schoten weg met slechts aan een kant een flagel. De waarnemingen van M. Zuelzer, die hierbij op de plaats van doorscheuring uit zijdelingsche zweepdraden een flagel zag ontstaan, hebben wij niet kunnen doen.

Het eenige verschil, dat wij morphologisch bij onze stammen konden waarnemen, was, dat bij den stam afkomstig van een patient de vormen van 6 en 7 μ lang steeds deelingsvormen waren. Zelfs exemplaren van 4 μ lang vertoonden bij deze

stam dikwijls al een dunne plek in het midden. Bij de muis-stam waren de groote exemplaren talrijker dan bij de mensch-stam.

De zweepdraden zijn veel minder lichtend en buitengewoon dun. In het midden van de snel slaande flagellen is soms een lichtend punt op te merken, dat verdwijnt bij langzamer beweging. Wij meenen, dat dit een optisch effect is, veroorzaakt door de kruisingen bij de snelle beweging. Wanneer de flagellen snel slaan, lijkt het of er aan ieder einde twee zijn, wanneer echter de bewegingen langzamer worden, ziet men, dat ook dit als een optisch bedrog beschouwd moet worden door de snelle beweging van een en dezelfde flagel. Doorgaans krijgt men den indruk, dat aan ieder uiteinde zich slechts een flagel bevindt. Enkele malen echter hebben wij reeds bij levende exemplaren de samenstelling van deze flagel uit talrijke draden kunnen waarnemen.

Het lichaam is zeer stug en buigt bij stooten tegen een weerstand slechts even door om terstond weer den ouden vorm aan te nemen. Slechts lange exemplaren met eene dunne plaats in het midden kunnen doorbuigen, soms zelfs geheel dubbel slaan.

De voortbeweging geschiedt zeer snel, schietend voor- en achterwaarts, soms draaiend om het midden van het lichaam. De aard van de beweging, die zeer gecompliceerd is, kan slechts worden nagegaan, wanneer zij langzamer wordt. In het donkere veld blijven de spirochaeten vrij lang actief, ook bij sterke verlichting, waarbij niet, zooals Van Lookeren Campagne beschrijft, de snelheid spoedig vermindert. Men moet dikwijls een half uur wachten voor de bewegingen zoo langzaam zijn, dat men zich hieromtrent een indruk kan vormen. Men merkt dan op, dat niet steeds aan beide uiteinden tegelijk de beide flagellen zichtbaar zijn. Wanneer de spirochaet zich in eene bepaalde richting voortbeweegt, maakt het dikwijls den indruk, dat aan den voorkant de flagel ontbreekt. Zoodra echter de bewegingsrichting verandert, ziet men plotseling de flagel ook aan dien kant weer slaan. Bij nauwkeurig waarnemen blijkt, dat dan de flagel aan den voorkant omgeslagen ligt langs het lichaam en bij verandering van richting weer uitslaat. Zoo kan men soms afwisselend aan beide kanten de flagellen zien slaan.

Bij de beweging wordt het lichaam stijf gehouden. De flagellen bewegen het voort, terwijl hieraan gepaard gaat eene draaiïng om de lengte-as. Een enkele maal krijgt men den indruk, dat de flagel nasleept. Wij meenen echter niet, dat het lichaam zelf de

voortbewegende kracht heeft, maar dat dit verschijnsel slechts optreedt, wanneer het organisme passief is en door eene vloeistofstroom in het preparaat wordt meegenomen. In rust neemt ook de zweepdraad den spiraalvorm aan met windingen ongeveer van denzelfden spoed als die van het lichaam. De lengte van den zweepdraad bedraagt meestal 1,5 tot 3 μ.

Bij onze verschillende stammen hebben wij nooit een onderscheid kunnen maken in actieve en langzame vormen, evenmin in exemplaren met een stomp en met een spits uiteinde. Wel zagen wij steeds bij eenzelfde dier naast elkaar groote en kleine vormen. Wij konden de meening van Joekes, die in het begin van de infectie kleine en later grootere exemplaren vond, niet deelen. Ook maakte het geen verschil in welk proefdier de spirochaet zich bevond.

Om een inzicht te krijgen in het aantal zweepdraden en de structuur van het lichaam hebben wij verschillende kleurmethodes toegepast. Hiertoe werden uitstrijk- en dikke druppel-preparaten van sterk geïnfecteerd bloed gemaakt. De dikke druppels werden op de bekende wijze met Giemsa gekleurd en inderdaad bleek dit eene eenvoudige methode om de spirochaeten in het bloed aan te toonen. Het lichaam van de spirochaeten wordt paars-rood gekleurd en verschijnt als een slanke spiraal, veel dunner dan in het donkere veld, maar geenszins misvormd, zooals van Lookeren Campagne dit beschrijft. Van zweepdraden is echter geen spoor te vinden.

De uitstrijk-preparaten werden gedeeltelijk gefixeerd met methyl-alcohol, drie minuten, gedeeltelijk in dampen van osmium-zuur gedurende 30 seconden. Vervolgens werd gekleurd met een Giemsa-oplossing in neutraal water, gedurende een half, een, twee en zes uur. Bij al deze preparaten werd alleen het lichaam paars-rood gekleurd, van de zweepdraden was ook hier niets te zien. De methode van fixeeren had geen invloed op de kleurbaarheid van de spirochaet. De eenigszins alkalische Giemsa-oplossing, zooals die voor het kleuren van malaria-tropica-parasieten wordt gebruikt, hoewel tot de hoogste intensiteit opgevoerd (Maurer 5de graad), gaf geen ander resultaat dan de vorige methodes. Daarentegen gelukte het wel met de Leishman-methode de flagellen te kleuren, zooals Joekes opgeeft. Het lichaam van de spirochaet wordt bij deze kleuring dikker en komt zoo te staan tusschen het slanke Giemsa- en het

plompe beitsbeeld. Dit is een merkwaardig feit, omdat het scherper dan tot nu toe aantoont, dat de beide methodes, Leishman en Giemsa, niet slechts kwantitatief, maar ook kwalitatief verschillende kleuringen leveren. Soortgelijke resultaten geeft ook de modificatie van Akashi door Adachi toegepast; van welken aard deze veranderde Romanowsky kleuring is, was in de ons toegankelijke litteratuur niet te vinden.

Met de zilver-impregnatie volgens Fontana-Tribondeau was nooit meer dan een flagel aan iederen kant waar te nemen, evenals bij de kleuring volgens Becker. Wel had hierbij het lichaam ongeveer de normale dikte, zooals wij die uit het donkere veld kennen. De opgaven, dat bij deze methode de spirochaeten opzwellen, zijn onjuist. Alleen indien men de Giemsa-kleuring als vergelijkingsobject gebruikt, zou men tot deze conclusie kunnen komen; indien men echter vergelijkt met het beeld in het donkere veld, hetwelk toch de juiste verhoudingen aangeeft, wordt het duidelijk, dat er van zwelling geen sprake is.

De zweepdraad-kleuring volgens Löffler gaf in den beginne geen goede resultaten. Hiervoor is immers een eiwit-arm preparaat noodig en daar wij niet over cultures beschikten, maar slechts geïnfecteerd bloed hadden, kon deze methode niet zonder meer worden toegepast. Om het eiwit te verwijderen lieten wij aan het beitsen voorafgaan een behandeling gedurende vijf minuten met eene gemodificeerde vloeistof van Ruge *), bestaande uit: Acid. Acet. 1. Formol 20, Aqua Dest. 100. Na afspoeling werd dan de zweepdraadkleuring volgens Löffler toegepast[1]). Hiermede verkregen wij verrassend goede resultaten, die in de foto's zijn vastgelegd. Volgens deze preparaten bestaan de flagellen inderdaad uit geheele bundels zweepdraden, die aan ieder uiteinde aanwezig zijn, terwijl ook dikwijls in het midden van het lichaam talrijke zweepdraden voorkomen. De dikte van het lichaam be-

---

*) Bij deze vloeistof schijnt een zekere fixeering op te treden, die echter niet verhindert, dat het haemoglobine uit de preparaten uitgewasschen wordt. Of ook andere eiwitten verwijderd worden en wat er verder nog gebeurt, is ons niet bekend. De oorspronkelijke opgave van Ruge is: acid. acet. 1, formol 2, aqua dest. 100. In talrijke boeken wordt echter de bovengenoemde oplossing opgegeven. Deze vloeistof wordt ook wel Huge'sche of Haga'sche vloeistof genoemd.

[1]) De kleuring geschiedt op de volgende wijze:

1. gedurende 5 min. gemodif. Ruge-opl. op droge preparaat laten inwerken;

antwoordt hierbij aan het beeld in het donkere veld. Het beeld met deze kleuring verkregen was niet steeds volkomen gelijk, zoo kwam bij de eene de contour bijzonder duidelijk voor den dag (plaat 1, fig. 2), terwijl bij andere het lichaam geheel donker gekleurd en fijner was, zoodat het meer op een Leishman-preparaat geleek (plaat 1, fig. 12). Wij konden niet uitmaken, waaraan deze verschillen te wijten waren. Zeker is, dat het niet afhankelijk was van den stam, dien wij gebruikten, maar van de wijze van vervaardigen van het preparaat. In ieder geval verdient de eenigszins gewijzigde Löffler-methode de voorkeur boven andere methodes, daar hiermede, behalve dat de talrijke zweepdraden gekleurd worden, men bovendien een juist beeld krijgt omtrent den vorm van het lichaam.

In de hoop, dat wij nog een nader inzicht konden krijgen in de structuur van deze organismen, is door ons de Heidenhain-kleuring toegepast. De preparaten zijn, zoowel nat gefixeerd, als voor de fixatie even aan de lucht gedroogd. Bij deze methode was van zweepdraden geen spoor te zien en van het lichaam was slechts een zeer dun gedeelte gelijkmatig donker blauw gekleurd. Dit dunne gedeelte, waarin de windingen duidelijk aanwezig waren, was steeds omgeven door een witten hof, die in doorsnede dezelfde dikte had als de dikte van de spirochaet in het donkere veld bedroeg. Men zou dit beeld kunnen vergelijken met een asdraad, die zich gekleurd heeft, terwijl de rest van het lichaam ongekleurd gebleven is en zoo in het blauwe plasma opvalt.

Men krijgt dus met al deze kleuringen een trapsgewijze opeenvolging van af het gebeitste tot het Heidenhain-preparaat, zooals plaat II overtuigend demonstreert.

---

2. afspoelen;
3. ½—1 min. beitsen onder zacht verwarmen in opl. van: 20 % waterige heetbereide tannine opl. 100 c.c., koud verzadigde ferrosulfaat opl. 50 c.c., alkohol. fuchsine opl. 50 c.c.;
4. afspoelen van beits met water;
5. met alkohol 96 % nabehandelen tot alleen deelen, waar prepar. is gekleurd zijn;
6. afspoelen met water;
7. kleuren met verwarmde versch bereide aniline-water-fuchsine opl. gedurende 1—2 min. onder zacht verwarmen;
8. afspoelen in water;
9. drogen.

C. Determinatie en nomenclatuur.

De meeningen omtrent den aard van den verwekker van de rattebeet-ziekte loopen ver uiteen en er zijn zeer veel namen aan dit organisme gegeven. Bovendien is het nog steeds een punt van oneenigheid of de spirochaeten bij ratten en bij muizen gevonden identiek zijn met den verwekker van deze ziekte bij den mensch. De oudste beschrijving is van Carter [1]), die in 1887 een organisme in het bloed van een mus decumanus vond, dat hij spirillum minor (!) noemde en dat veel geleek op de spirochaeta morsus muris van Futaki. Ook de spirochaeta muris var. Virginiana en var. Galatziana, die bij ratten zijn gevonden, beantwoorden, voor zoover dit uit de onvolledige gegevens valt op te maken, aan de beschrijving van den verwekker van de rattebeet-ziekte. In eene publicatie van Wenyon [2]) in 1906 wordt medegedeeld, dat hij bij eene muis een spirochaet ontdekt heeft, die precies lijkt op de spirochaet bij ratten gevonden. Steeds gelukte hem de overenting hiervan op muizen, eveneens op jonge ratten, echter niet op volwassen exemplaren. Ook caviae waren niet vatbaar voor deze infectie. In hetzelfde jaar gaven Breinl en Kinghorn [3]) eene mededeeling over eene spirochaet, die zij in het bloed van eene muis vonden, welke zij echter nog niet op andere muizen konden overbrengen. Zij meenden, dat dit organisme niet identiek was met dat beschreven door Carter, omdat het hunne korter was en minder windingen telde. Zij noemden het de spirochaeta laverani. Tevens deelen zij mede dezelfde spirochaet bij de mus musculus gevonden te hebben.

Borrel [4]) vond bij muizen met kanker deze spirochaeten en meende, dat zij uit den darm in het bloed waren gekomen, tengevolge van de kanker-laesie. Bij kankermuizen werd eveneens door Deetjen [5]) een organisme aangetoond, dat volkomen overeenkomt met de spirochaet, welke wij bij ratten vonden. Dierproeven heeft hij hiermee niet gedaan.

Kusama, Kobayashi en Kodama [6]) komen tot de conclusie, dat het organisme door Futaki beschreven, hetzelfde is als al de hier

---

[1]) Scient. Mem. by Med. Off. of the Army of India, Part. 3, blz. 45, 1887.
[2]) Journ. of Hyg. 1906, blz. 581.
[3]) Lancet 1906, blz. 651.
[4]) C. R. Soc. d. Biol. 1905, blz. 770.
[5]) Münch. Med. Wochenschr. 1908, LV, blz. 1167.
[6]) Kitasato Arch. of Exp. Med. 1919.

boven genoemde. Van Lookeren Campagne sluit zich hierbij aan. Futaki zelf echter is van meening, dat het organisme, dat hij bij den mensch gevonden heeft, geen overeenkomst heeft met alle vroeger beschrevene.

Eerst sedert de ontdekking van de spirochaeta morsus muris door Futaki c.s. in 1916 zijn er meer uitvoerige gegevens in de litteratuur verschenen. Futaki c.s. hebben in eene publicatie van 1917 als hunne meening te kennen gegeven, dat deze spirochaet tot de protozoën en niet tot de bacteriën zou behooren. Hij drukt zich aldus uit: „Hence we have named our organism spirochaeta morsus muris and regard it as belonging to the spironemacea (Gross) of the nature of treponema".

Deze indeeling heeft echter niet bij alle onderzoekers instemming gevonden. Zoo komt Adachi op grond van zijne bevindingen tot de conclusie, dat de verwekker van de rattebeet-ziekte thuis hoort bij de spirillen, dus bij de bacteriën eene plaats moet vinden. Hij spreekt zich hierover aldus uit: „The rigid body, the signs of transverse division and multiple flagella seem to distinguish the forms reported here from spirochaetes and indicate that they are spirilla".

In hetzelfde jaar geeft ook M. Zuelzer als hare meening te kennen ten opzichte van dit organisme, dat het niet bij de groep der spirochaeten moet worden ondergebracht. Zij heeft hare onderzoekingen verricht met spirochaeten, die zij vond bij muizen. Wij citeeren: „Bei guter Dunkelfeldbeleuchtung konnte ich nun gelegentlich im Leben wahrnehmen, dasz die bipolaren ziemlich starken eigenbeweglichen Endfäden dieser Mäuseparasiten keinen einheitlichen Faden darstellen, sondern ein aus feinsten Geisseln zusammengezetstes Geisselbüschel. Geisselpraeparaten bestätigen diese Beobachtung. Diese Endfäden sind also keine einheitlichen Endfäden wie bei Spirochaeten, sondern Geisselbüschel. Soweit ich Teilungen beobachten konnte, bestätigen auch sie diese Auffassung. Bei der Teilung — es wurde bisher nur Zweiteilung beobachtet — werden nämlich ganz ähnlich wie oben bei den Wasservibrionen gezeigt wurde, die Geisseln in der Mitte des Organismus angelegt, und zwar als einzelne Geisseln rings um den Körper herum, so dasz sie auf Praeparaten seitlich zu liegen kommen. Das Durchreissen des Körpers erfolgt bei der Querteilung an dieser Stelle zwischen dem Geisselkranz sehr schnell und die Geisseln verkleben zu einem Geisselbüschel dessen Zu-

sammensetzung aus einzeln Geisseln nur noch gelegentlich wahr zu nehmen ist. Ich glaube, dasz allein schon aus dieser Art der Geisselbildung deutlich hervorgeht, dasz es sich hier nicht um Spirochaeten handelt, deren Endfäden ganz anderer Natur wären wie bei den anderen Spirochaeten, sondern nach der Art der Geisselanlagen um Bacteriën, und zwar, da dieselben ein Geisselbüschel an jedem Körperende tragen, um Spirillen. Auf jedem Fall muss den beiden Organismen, der Spirochaeta muris und, wenn sich das gleiche Verhalten ergeben sollte, auch der Spirochaeta morsus muris ein Platz ausserhalb der Gattung Spirochaeta angewiesen werden, indem man sie entweder einer besondern Gattung zuweist oder, was ich für richtiger haltte, indem man sie zu den echten Bacterien in der Nähe der Spirillen stellt."

Als een verschil tusschen protozoën en bacteriën geeft Von Prowazek op, dat 5 %'s taurocholzure Na. het protoplasma der protozoën in tegenstelling met de bacteriën en schimmels, behalve de pneumococcen, oplost.

Futaki c.s. vermelden, dat hunne cultuurvormen worden opgelost in eene oplossing van saponine en 0.1 % taurocholzure Na. Daar echter niet vaststaat, dat deze cultuurvormen inderdaad dezelfde waren als de spirochaeten uit menschen en ratten, heeft deze mededeeling voor ons geen groote waarde. Verder hebben wij geen nauwkeurige opgaven hierover kunnen vinden.

Daar de eerste nauwkeurige beschrijving van dit organisme van Carter is en deze het den naam gegeven heeft van spirillum minor, meent Robertson [1]) dat deze naam in eere moet worden hersteld en wil in het vervolg spreken van S p i r i l l u m m i n u s, de grammaticaal juiste vorm.

In de Nouveau Traité de Médecine van 1924 vinden wij in een geschrift van Thibaut de meening verdedigd, dat de spirochaeta morsus muris behoort bij de protozoën en wel volgens Brumpt bij de treponemata, terwijl andere schrijvers meenen, dat dit organisme thuis hoort bij de spironemata, waartoe de parasieten van de recurreerende koortsen zouden behooren. Zij geven op, dat de benaming moet zijn: spironema japonica of spironema sodoku (Noguchi). Door de Japansche onderzoekers wordt dit organisme steeds tot de spirochaeten gerekend.

Van Lookeren Campagne geeft de indeeling van de spirochaeten,

---

[1]) Ann. of Tropical Med. a. Parasitology, vol. 18, 1924, blz. 157.

zooals Noguchi deze in 1918 heeft opgesteld. Hij zet in eene tabel de eigenschappen van alle geslachten naast elkaar en komt in vergelijking hiermee tot de conclusie, dat de verwekker van de rattebeet-ziekte de meeste overeenkomst heeft met het genus spironema (= borrelia, de tegenwoordig erkende naam) en geeft de voorkeur aan den naam spironema muris (Futaki) boven die van Futaki c.s.

Row meent, dat de spirochaet, welke hij bij zijne patiënten vond in Voor-Indië, een andere soort is en noemt deze de spirochaeta petit.

Zooals uit het bovenstaande blijkt, heerscht er nog veel oneenigheid op dit gebied. Het viel ons op, dat betrekkelijk weinig aandacht is besteed aan de verschillen, die men te zien krijgt bij het toepassen van diverse onderzoekingsmethodes. Wij meenen, dat, om zich over dit onderwerp een oordeel te kunnen vormen, het noodig is op de technische moeilijkheden van het onderzoek te letten. Het onderzoek in het donkere veld geeft vele bijzonderheden slechts dan te zien, indien er niets aan de verlichting ontbreekt. Dat b.v.b. Row geen zweepdraden heeft kunnen waarnemen, kan zeer goed het gevolg zijn geweest van een niet geheel juiste belichting van het donkere veld. Heeft hij hiernaast slechts de gewone Giemsa kleuring toegepast, dan spreekt het vanzelf, dat hij nooit zweepdraden heeft kunnen aantoonen. Het is dan ook niet waarschijnlijk, dat hij een ander organisme gevonden heeft dan Futaki c.s.. Het verschil in grootte is toch niet van zooveel beteekenis, dat het geven van een anderen naam, namelijk spirochaeta petit, gewettigd is. Steeds kan men naast de groote exemplaren ook vormen vinden, die kleiner zijn, zooals Row ze beschrijft. Daar echter het klinische beeld geheel overeenkomt, op enkele kleinigheden na, met het beeld van Futaki en andere beschrijvingen, meenen wij, dat deze organismen identiek zijn met die van Futaki. De mededeeling van Powell, dat hij nooit flagellen zag, heeft niet de minste waarde, daar hij slechts Giemsa- en Heidenhain-preparaten vervaardigde.

In het donkere veld konden wij reeds een enkele maal meerdere zweepdraden aan een uiteinde waarnemen, terwijl de Löfflersche zweepdraadkleuring, zooals wij deze boven beschreven, de bundels flagellen onmiskenbaar aantoonde. Volgens M. Zuelzer is de aanwezigheid van deze bundels zweepdraden genoeg om deze organismen tot de spirillen te rekenen. Adachi voert hierbij nog de

stugheid en de transversale deeling als argumenten aan. Deze dwarse deeling komt echter ook bij de spirochaeten meestal voor en kan dus niet als zoodanig dienen. Geen van deze onderzoekers heeft echter eenige waarde gehecht aan de lichaamsstructuur van deze organismen. Door verschillende kleurmethodes te gebruiken hebben wij getracht een inzicht hierin te verkrijgen. Naast elkaar werden toegepast de kleuring volgens Giemsa, Leishman, Heidenhain en Löffler. Bij de Giemsa en Leishman-kleuring is het lichaam donker gekleurd zonder dat eenige structuur waar te nemen is, terwijl men met de Löffler-kleuring soms eene iets donkerder contour om het overigens homogeen gekleurde lichaam zien kan. Boven deelden wij reeds mede, dat bij de Heidenhain-kleuring slechts een zeer dun gedeelte van de parasiet gekleurd was, dat te vergelijken is met een as-draad, waarom heen een kleurlooze hof waar te nemen is. Bij geen van deze kleurmethodes echter kan men iets van de structuur waarnemen, die kenmerkend is voor de ons bekende spirillen, zooals spirillum volutans en spirillum undula.

Volutine korrels, welke bij spirillum volutans als zwarte punten te zien zijn, bij kleuring met methyleen-blauw en nabehandelen met lugol, waren op deze wijze bij den verwekker der rattebeetziekte niet aantoonbaar.

In verband met de mededeeling van Von Prowazek, boven geciteerd, hebben wij eene 5 %'s oplossing van taurocholzure natrium op onze stammen laten inwerken, waardoor deze volkomen werden opgelost. Er bleef geen asdraad over, zooals bij veel spirochaeten met deze behandeling het geval is. Volgden wij echter het voorschrift van Futaki, die gewerkt heeft met een 1 per mille oplossing, dan werden deze organismen niet aangetast en waren zelfs na anderhalf uur nog duidelijk zichtbaar, terwijl ook de omtrek niet vervaagd was. Deze bevindingen zijn dus in tegenspraak met die van Futaki, die bij deze zwakke oplossing verdwijning der spirochaeten constateerde. Eene 10 %'s oplossing van saponine, die de treponemata en de spironemata oplost, de spirochaeten en leptospiren echter niet aantast, laat volgens onze ondervinding de uiterlijke vorm van het lichaam van de spirochaeta morsus muris onbeinvloed. De parasieten gaan wel dood in deze oplossing, maar eene uiterlijke verandering valt niet waar te nemen, zelfs de zweepdraden blijven behouden. De meening van Futaki, dat in deze saponine-oplossing de spirochaeten zouden verdwijnen, konden wij bij herhaald onderzoek niet bevestigen. De grens, welke Von

Prowazek door middel van de inwerking van galzouten meent te kunnen trekken, is met deze methode niet zoo scherp te stellen. Het is ons toch meerdere malen gebleken, dat tand-spirochaeten in eene 5 %'s oplossing van taurocholzure natrium slechts iets dunner worden en niet volkomen verdwijnen. Groote spirillen uit een septic tank bleven volkomen onaangetast.

Noguchi [1]) geeft in eene publicatie in 1918 de reeds genoemde verdeeling van het systeem der spirochaeten in de volgende genera: Spirochaeta, Cristispira, Saprospira, Borrelia, (eigenlijk Spironema, maar deze naam was reeds vergeven), Treponema en Leptospira.

De Spirochaeten zijn organismen van 100 tot 500 μ groot, hebben een asdraad en geen zweepdraden. Ook de Saprospira en Cristispira zijn ongeveer 100 en 70 μ groot en beide missen zweepdraden. Deze groepen komen dus voor de indeeling van de verwekker van de rattebeet-ziekte zeer zeker niet in aanmerking. Ook het genus Borrelia (Spironema) is 8 tot 16 μ groot, heeft bovendien onregelmatige windingen, een kronkelende beweging en is voorzien van een eindhaar. Het is dus niet gerechtvaardigd de zoogenaamde spirochaeta morsus muris hieronder te rekenen. Het geslacht der treponemata is 6 tot 14 μ groot, heeft de bouw van een stijve spiraal aan de uiteinden fijner wordend, terwijl zweepdraden niet voorkomen. De kleuring met anilinekleurstoffen is moeilijk. Zooals uit deze eigenschappen blijkt, is dus de plaatsing in deze groep, zooals Brumpt dit doet, zeker foutief. Ten slotte wordt, eigenlijk onbegrijpelijk, de verwekker van de rattebeetziekte ook nog door sommige onderzoekers bij de leptospiren ondergebracht. De windingen van deze toch zijn fijner, slingeren zich om een asdraad, het geheele lichaam is zeer buigzaam en de zweepdraden ontbreken, terwijl ook de wijze van voortbewegen een geheel andere is.

Wij meenen daarom, dat in het systeem der spirochaeten van Noguchi geen plaats is voor den verwekker van de rattebeetziekte.

Er blijft dus slechts over een nieuw geslacht te maken of ze bij de spirillen te rekenen.

Tegen de indeeling bij de spirillen pleit, dat de structuur van deze, voor zoover bekend, eene geheel andere is, dan die van den

---

[1]) Journ. of Exper. Medic. 1918, blz. 575, XXVII.

verwekker van de rattebeet-ziekte. De oplosbaarheid in taurocholzure natrium is eveneens een bezwaar tegen deze klassificatie.

Waar de definities van deze groepen echter nog zoo vaag zijn, hellen wij over naar de meening van M. Zuelzer om den verwekker van de rattebeet-ziekte toch bij de spirillen te rekenen, wanneer wij daarbij slechts in gedachte houden, dat er enkele kenmerken zijn, waardoor zij in deze groep toch eene zeer afzonderlijke plaats innemen. Wij sluiten ons aan bij de nomenclatuur door Robertson voorgesteld en zullen in het vervolg spreken van spirillum minus.

Op de vraag of het al of niet gewenscht is onderscheid te maken tusschen het organisme, dat als verwekker van de rattebeet-ziekte bij den mensch en bij de rat wordt gevonden en het hieraan morphologisch volkomen gelijke organisme, dat bij de witte muizen voorkomt, zullen wij aan de hand van dierproeven nog terugkomen.

D. Cultuur-proeven.

Futaki deelt mede, dat in den voedingsbodem van Shimamine, bestaande uit paardenserum en natriumnucleinaat, de verwekker van de rattebeet-ziekte zich kan vermeerderen. Hij zag hierin, naast de gewone vormen, ook vormen, die veel grooter, tot 19 μ lang waren. Zooals uit zijn beschrijving (blz. 27) blijkt, is er veel reden aan te nemen, dat hij verwarring met pseudospirochaeten heeft gemaakt. Deze kunnen toch ontstaan zijn uit de erythrocyten, welke met de spirillen in den voedingsbodem zijn gekomen. De overenting van deze cultuur is nooit gelukt. Onorato[1]) schrijft met dezen voedingsbodem eveneens succes gehad te hebben. De op leptospiren gelijkende vormen, die hij in deze cultuur vond, zijn waarschijnlijk eveneens pseudospirochaeten geweest. Ook zou hij goede resultaten bereikt hebben met kweeken in gehaemolyseerd konijnenserum. Verdere opgaven over goedgeslaagde cultuurproeven, waarvan ook de sub-cultuur mogelijk was, komen niet voor. Aan enkele onderzoekers is het gelukt deze bloed maar nooit is een werkelijk voortkweeken op kunstmatige bloed, maar nooit is een werkelijk voortkweeken op kunstmatige voedingsmedia beschreven.

---

[1]) Arch. Ital. sci. med. colon. Tripoli 1923. Ref. Trop. Diseas. Bull. 1924. XXI, no. 9.

Meerdere pogingen om de spirillen in cultuur te brengen zijn door ons aangewend. Succes hebben wij hiermede echter niet gehad. Een kort overzicht moge hier volgen.

Eerst hebben wij de proef genomen met de voedingsmedia, die voor leptospiren gebruikt worden, bestaande uit 1 pro mille pepton, 1 pro mille pepton met 3 pro mille konijnenserum of 1 pro mille pepton met bloed (1 druppel op 1 c.c.). Hiervan werden reeksen gemaakt, die door toevoeging van fosfaatmengsels verschillende P.H. hadden, van P.H. 6 oploopend tot P.H. 8½. De buisjes werden gedeeltelijk bij 37°, gedeeltelijk bij 26° gedurende meerdere dagen bewaard.

Met den voedingsbodem van Shimamine werden talrijke proeven genomen, zoowel met als zonder toevoeging van fosfaatmengsel, terwijl dan P.H.'s van 7 tot 8½ bereikt werden.

Anaërobe kweeking volgens Nikolaus Kovacs[1]) in glucose-pepton-bouillon werd eveneens beproefd. Hiervoor werd gebruik gemaakt van een mengsel van 2 % glucose, 5 % pepton, ½ % NaCl. met en zonder toevoeging van 10 % serum. Ook werden proeven genomen met 10 % pepton in plaats van 5 % en verder werd nog bij een gedeelte van de buisjes 0,3 % carbo-animalis Merck toegevoegd.

Normosal-oplossing met 10 % konijnenserum of 1 % pepton werd eveneens als voedingsbodem beproefd. De voedingsmedia van Reiter-Ramme (1 konijnenserum: 5 physiologisch zout), welke Brumpt[2]) noemt, leverden bij ons geen goede resultaten op, evenmin, indien hierin de physiologische zoutoplossing door normosaloplossing werd vervangen. Met den voedingsbodem van Noguchi hadden wij evenmin succes.

Menschenserum onverdund of verdund met 1 pro mille peptonoplossing, gelijke deelen, was niet geschikt als voedingsbodem. Op dezelfde wijze werden proeven genomen met konijnen- en paardenserum, eveneens met menschenserum, waarbij haemolyse was opgetreden. In gedefibrineerd menschenbloed en menschenbloed door hirudine vloeibaar gehouden bleven de spirillen, voor zoover wij konden aantoonen, niet in leven.

Geen van deze cultuurproeven is geslaagd.

---

[1]) Centr. Blatt. f. Bact. B. 92, 1924, blz. 580.

[2]) Précis de Parasitologie 1922, blz. 83.

DERDE HOOFDSTUK.

INFECTIE VAN PROEFDIEREN.

Ogata[1]) was in 1908 de eerste, die dierproeven met den verwekker van de rattebeet-ziekte verrichtte. Hij verkeerde toen nog in de meening, dat hij met sporozoën als verwekkers van deze ziekte te doen had. Hij entte bij caviae geëxtirpeerde lymphklieren van een patient en zag in aansluiting hieraan zwelling op de entplaats en na een week lymphklierzwelling optreden. De meeste dieren stierven tusschen drie weken en drie maanden na de infectie. Bij de sectie bleek, dat zij sterk vermagerd waren en er algemeene lymphklierzwelling bestond, terwijl in de longen dikwijls pneumonische haarden voorkwamen. In het bloed vond hij dezelfde sporozoën als bij den patient, op grond waarvan hij tot de conclusie kwam, dat de caviae aan rattebeet-ziekte leden. Mogelijk is zulks natuurlijk, want het klinische en pathologisch-anatomische beeld vertoont inderdaad wel eenige overeenkomst met dat van de rattebeet-ziekte; het voorkomen der sporozoën echter opvatten als doorslaand bewijs voor de aanwezigheid der ziekte is natuurlijk onjuist. In 1911 toonde hij aan, dat caviae ziek gemaakt konden worden door ze door ratten te laten bijten. De caviae stierven na drie tot vier weken, terwijl bij een de gebeten poot gangraeneus werd. Bij de sectie vond hij dezelfde sporozoën, die hij steeds bij menschen en caviae met rattebeet-ziekte meende waargenomen te hebben. Wij meenen echter, dat door deze proeven het bewijs niet geleverd is, dat door de beet van deze ratten de caviae rattebeet-ziekte hebben gekregen, maar dat het zeer goed mogelijk is, dat door andere micro-organismen hier eene septische infectie is veroorzaakt. Het beeld bij de gebeten caviae vertoont toch geen overeenkomst met het typische beeld der rattebeet-ziekte.

Eerst na de ontdekking van Futaki c.s. konden meer systematische onderzoekingen worden gedaan over de mogelijkheid van infectie van verschillende proefdieren. In hunne eerste mededeeling geven Futaki c.s. reeds op, dat het hun gelukt was, door huid en weefsel van patienten bij apen, caviae en witte ratten te inplanteeren, deze dieren ziek te maken. In hunne volgende publicatie deelen zij mede, dat de infectie bij deze dieren niet altijd

[1]) Deutsch. Med. Wochenschr. 1908, blz. 1099.

aanslaat, maar dat de muis het meest geschikte proefdier is. In 1916 lieten Ishiwara, Ohtawara en Tamura caviae, witte ratten en muizen bijten door een aantal decumanus, die met spirillum minus waren geïnfecteerd. Zij zagen, dat op deze wijze de infectie werd overgebracht want de proefdieren vertoonden eenigen tijd na den beet spirillen in het bloed.

Vrijwel alle onderzoekers stemmen hierin overeen, dat de muis het beste proefdier is. Zelfs indien de infectie zoo gering was, dat men bij het microscopisch bloedonderzoek van patienten geen spirillen kon vinden, gelukte het door dit bloed bij muizen in te spuiten in het bloed van deze de spirillen-infectie aan te toonen. Volgens Futaki c.s. zijn bij de muis bij enting van menschelijk materiaal de spirillen na zeven dagen tot een maand in het bloed te vinden, bij enten van bloed van muis op muis meestal reeds na vier dagen. Volgens hen heeft passage door muizen evenals door ratten eene verhooging van virulentie ten gevolge. Deze laatste opgave wordt door anderen niet bevestigd. Over het algemeen vertoonen de muizen geen ziekteverschijnselen ten gevolge van de infectie. Ishiwara c.s. zagen, dat enkele van de dieren dood gingen. Zij konden bij de sectie geen macroscopisch zichtbare veranderingen aantoonen. Gewoonlijk zijn ongeveer vijf dagen na de infectie de eerste spirillen in het bloed waar te nemen. De kortste tijd tusschen inenting en eerste waarneming in het bloed bedroeg drie dagen, terwijl in andere gevallen de infectie eerst na een maand aansloeg. Volgens Robertson verdwijnen ze dan dikwijls den zesden dag en komen op den zevenden of achtsten weer in het bloed terug, waar zij gedurende meerdere weken aanwezig blijven. In het normale geval zijn omstreeks den veertienden dag gedurende enkele dagen zeer veel spirillen in het bloed, die dan geleidelijk weer in aantal afnemen, echter meerdere weken tot maanden aanwezig blijven, zij het dan in gering aantal. In gevallen, waarin men microscopisch geen spirillen meer in het bloed kan aantoonen, blijkt dit bloed herhaaldelijk nog infectieus voor andere muizen te zijn.

Ook witte ratten worden zeer veel als proefdier gebruikt, hoewel zij niet zoo gevoelig zijn als witte muizen. Zij herbergen de spirillen slechts zelden in een even groot aantal in het bloed als de laatste. Futaki maakt melding van een veelvuldig voorkomende miltvergrooting bij geïnfecteerde ratten; aangezien dit bij ratten een verschijnsel is, dat herhaaldelijk optreedt, heeft deze vondst

geen bijzondere beteekenis. Uit mededeelingen van Mooser blijkt, dat het grootste deel van zijn geïnfecteerde ratten na vier tot vijf maanden oogverschijnselen, bestaande uit conjunctivitis, keratitis, iritis en schrompeling der oogen, had, waarbij spirillen in het oog konden worden aangetoond. Zooals wij boven reeds bespraken, meent hij, dat de overbrenging van de spiril op andere dieren door den beet het gevolg is van deze oogverschijnselen.

Van Lookeren Campagne merkte op, dat de vergroote milt van de ratten bij microscopisch onderzoek opvallend veel bloedpigment en bloed ook buiten de sinus bevatte. Ook constateerde hij, dat de spontane mortaliteit onder de geïnfecteerde ratten grooter was dan onder de gezonde en bovendien meende hij waargenomen te hebben, dat de eerste deels trager in hunne bewegingen waren, deels bijtlustiger. Hij oordeelt het dan ook waarschijnlijk, dat ratten en muizen niet als „virus réservoir" te beschouwen zijn, maar dat zij wel degelijk onder de infectie lijden. De proeven van Mooser bevestigen voor de ratten althans deze meening.

Daar muizen en ratten over het algemeen zeer weinig verschijnselen vertoonen, is gezocht naar een ander proefdier, dat duidelijker symptomen had en gemakkelijker te bestudeeren was.

De cavia is door veel onderzoekers hiervoor gebruikt. De resultaten, verkregen met de infectie van deze dieren, zijn nogal uiteenloopend, herhaalde malen weerspreken zij elkander. Vooral omtrent de gevoeligheid voor de infectie zijn de meeningen sterk verdeeld. Futaki c.s. vonden, dat caviae dikwijls ongevoelig waren. Later deelden zij mede, dat de leeftijd van de caviae eenigen invloed had op de vatbaarheid, dat namelijk jonge dieren gevoeliger waren dan oudere en dat ook de jongere in grooter aantal aan de infectie bezweken. Ishiwara c.s. ondervonden daarentegen, dat de overbrenging op caviae steeds gelukte en dat de afloop na eene periode van twee tot vijf weken ziek zijn zonder uitzondering doodelijk was. Zij konden door cavia-passage geen verandering van de verschijnselen constateeren. De bevindingen van Van Lookeren Campagne komen overeen met die van Futaki; ook hij besluit tot eene relatieve onvatbaarheid van de caviae. Verder heeft hij in tegenspraak met Ishiwara eene verhooging van de virulentie door cavia-passage waargenomen. Walch daarentegen kon evenals Ishiwara geen verhooging van virulentie bij cavia-passage constateeren; hij heeft echter wel opgemerkt, dat bij injectie van eene grootere hoeveelheid spirillen de incubatie

verkort wordt. Robertson had in het geheel geen dooden onder de caviae, die met spirillen geïnfecteerd waren, evenmin als Row en Parmanand [1]).

Over de verschijnselen bij de caviae loopen eveneens de waarnemingen uiteen. Een constant verschijnsel is de temperatuursverhooging; de temperatuurcurve heeft echter niet een karakteristiek verloop, zooals dit bij den mensch en den aap voorkomt. Door zeer veel onderzoekers worden als op den voorgrond tredende symptomen een afneming van gewicht en een uitvallen van de haren aangegeven. Bijna steeds treedt eene zwelling van de entplaats op, gevolgd door regionaire lymphklierzwelling. Sommigen geven aan, dat voor deze verschijnselen een incubatie-tijd van ongeveer twee weken noodig is, terwijl ook dan eerst de spirillen in het bloed te vinden zouden zijn. Eenigszins afwijkend hiervan is b.v.b. de mededeeling van Ishiwara, die drie tot vier dagen na de injectie zwelling en cyanotische verkleuring waarnam, gepaard met regionaire lymphklierzwelling, terwijl dan ook reeds spirillen in het bloed aan te toonen waren. Van Lookeren Campagne constateerde een incubatie van ongeveer veertien dagen maar zag wel dikwijls als vroegsymptoom zwelling op de entplaats, een enkele maal vergezeld van temperatuursverhooging, optreden.

Volgens de mededeeling van Ishiwara werden in de eerste reeks caviae, die door ratten gebeten waren, eerst kort voor den dood de spirillen in het bloed gevonden, terwijl in de volgende reeks de spirillen reeds na vier tot twaalf dagen aangetoond konden worden. Eenigszins afwijkend is het beeld door Robertson waargenomen. Zijne caviae kregen twee tot drie dagen na de enting een koortsaanval gevolgd door meerdere onregelmatige toppen. De dieren waren twintig tot vier en twintig dagen ziek, hadden geen eetlust, waren zwak en hadden eene slechte beharing. De dood trad geen enkele maal op. Er werden ook nooit spirillen in het bloed aangetoond, niet direct en niet door enting op muizen.

Eene uitvoerige beschrijving van de gevolgen van deze infectie voor de caviae vindt men bij Futaki c.s. die behalve de klinische verschijnselen ook de anatomische afwijkingen hebben nagegaan. Zij vinden, dat de organismen na eenigen tijd voornamelijk in het bindweefsel over het heele lichaam verspreid voorkomen. Ooglid,

---

[1]) Ind. Journ. of Medic. Research 1923, blz. 181.

neus en bovenlip worden dikwijls vroeg in dit proces betrokken. De verspreiding heeft plaats in het corium tot de heele huid is aangedaan en de haren uitvallen. De milt is omstreeks den achtsten dag vergroot en in de pulpa zijn enkele spirillen aan te toonen. Hart, nier, bijnieren en tractus intestinalis zijn gewoonlijk normaal. De lever is hyperaemisch en in de vaten van de kapsel zijn een enkele maal spirillen waar te nemen. De cornea is dikwijls aangedaan en de organismen komen in verschillende deelen van het oog voor. In tegenspraak hiermede zijn echter de bevindingen van meerdere onderzoekers, die bij de sectie zwelling van nieren en bijnieren, een enkele maal met bloedingen, constateerden, terwijl ook longbloedingen beschreven worden. In de nieren zijn de spirillen enkele malen gevonden, namelijk in de tubuli recti en de Henle'sche lissen; in de bijnieren vooral in de cellen van de cortex. Ishiwara geeft nog op als symptoom van de experimenteele rattebeet-ziekte de sklerose van de entplaats.

Meer nauwkeurige waarnemingen omtrent de oogverschijnselen vindt men bij Mooser, die werkte met een spiril gevonden bij een wilde rat. Hij nam als constant optredend verschijnsel waar keratitis en conjunctivitis. Tusschen den vijftienden en twintigsten dag trad een grauwe ringvormige wolk in de cornea op, zoodat het beeld geleek op een arcus senilis. De troebeling nam snel toe tot de geheele cornea melkachtig was en fijne vaten van de periferie naar binnen groeiden. Na enkele dagen helderde de troebeling weer op; eenigen tijd later trad echter dikwijls een recidief in. In het mucopurulente secreet van de conjunctiva waren spirillen aanwezig. De haren om oogen en neus vielen uit en de oogleden werden dik. Nieuwe koortsaanvallen gingen dikwijls gepaard met nieuwe troebelingen van de cornea.

Het aantoonen van de spirillen in de weefsels geschiedt met de zilver-impregnatie volgens Levaditi. Niet steeds is het echter gemakkelijk de spirillen in de coupes te vinden en aan meerdere onderzoekers is het niet gelukt ze bij zeker geïnfecteerde dieren aan te toonen. De foto's, die Kaneko en Okuda [1]) geven van Levaditi-preparaten, zijn niets zeggend. Wij hebben zelf meerdere malen dergelijke vormsels gevonden maar meenen niet het recht te hebben deze tot de spirillen te rekenen. Zij berusten waarschijnlijk op verontreinigingen in het preparaat,

[1]) Journ. of Exp. Med. 1917 bl. 363. XXVI.

terwijl misschien ook zwart gekleurde zenuwvezels voor spirillen zijn aangezien.

Kusama, Kobayashi en Kasai[1]) hebben met stammen van verschillende herkomst caviae geïnfecteerd en vinden als constant optredend verschijnsel slechts gewichtsafname en uitval van de haren. Koorts treedt op bij infectie met stammen afkomstig van mensch of rat, slechts zelden met een stam van de veldmuis.

De aap is eveneens een veel gebruikt proefdier, vooral omdat het ziekteverloop veel overeenkomst heeft met dat van den mensch. De meeningen hierover zijn echter niet eensluidend. Zoo deelt Futaki mede, dat de infectie bij apen dikwijls niet aanslaat en dat het koortstype niet overeenkomt met dat van den mensch, terwijl Ishiwara schrijft, dat infectie van pithecus irus wel gelukt maar geen verschijnselen geeft, terwijl de temperatuurcurve van pithecus rhesus veel gelijkt op die van den mensch. Hij zag ook bij dezen laatsten aap een papuleus erytheem in aansluiting aan de infectie optreden. De recurreerende koorts hield eenigen tijd aan en verdween daarna spontaan. Kitagawa en Mukoyama namen een geval van een aap waar, die op de infectie met een vrij typisch koortsverloop reageerde en genas na salvarsan-injectie. Op de mededeeling van Kobayashi en Kodama omtrent het verschil in pathogeniteit voor dezelfde aap-soort van verschillende stammen uit veldmuizen van verschillende streken zullen wij later nog terugkomen. Behalve op genoemde dieren zijn nog proeven verricht met het virus van de rattebeet-ziekte op enkele konijnen. Ishiwara verkreeg geen positieve resultaten bij twee konijnen. Door Yamada[1]) wordt melding gemaakt van spontane overdracht van spirillen van zieke caviae op gezonde konijnen, die samen in een hok waren ondergebracht. Hij kon in het bloed van de konijnen geen spirillen aantoonen maar het serum had eene agglutineerende werking op de spirillen tot in eene verdunning van 1 : 8. Aangezien het ons onmogelijk was van dit werk in het oorspronkelijke kennis te nemen, hebben wij ons met een referaat tevreden moeten stellen. Wij hebben ons dus geene meening over de waarde van deze proeven kunnen vormen. Infectie van konijnen gelukte Van Lookeren Campagne in zoover, dat hij regionaire klierzwelling zag optreden en in het bloed circuleerende antistoffen kon aantoonen. Spirillen kon hij in het bloed niet waarnemen; evenmin in

[1]) Tokyo Iji Shinji 1917, blz. 2577. Ref. Trop. Diseas. Bull. 1919, blz. 338.

dat van enkele katten en een hond, die hij getracht had te infecteeren.

Eigen onderzoek. Onze dierproeven zijn verricht met de vijf stammen, die te onzer beschikking waren.

1. Witte muis-stam.

De overenting van dezen stam op andere muizen gelukte zonder uitzondering. De incubatie was korter of langer naargelang eene grooter of kleiner hoeveelheid spirillen werd ingespoten, varieerend van vijf tot acht dagen. Ongeveer op den veertienden dag waren de spirillen in grooten getale in het bloed aanwezig, zoodat het onderzoek in het donkere veld (Objectief D, Oculair 4) ongeveer twee per gezichtsveld te zien gaf. Nadat enkele dagen de infectie op dit hoogtepunt bleef, nam het aantal af en bleef daarna slechts gering, zoodat het dikwijls moeilijk was zelfs een enkel exemplaar te vinden. Ziekteverschijnselen konden wij bij deze muizen niet waarnemen; de mortaliteit was niet grooter dan bij de gezonde muizen. Meerdere pogingen om met dezen stam caviae ziek te maken zijn mislukt. Het geïnfecteerde bloed werd bij caviae onderhuids ingespoten. In aansluiting hieraan trad geen zwelling van de entplaats op, zooals wij dat bij de andere stammen konden waarnemen en ook de temperatuur bleef normaal. In het bloed konden bij herhaald onderzoek nooit spirillen worden aangetoond. Muizen, die met het bloed van deze caviae eenigen tijd na de inenting werden ingespoten, herbergden na lange observatie geen spirillen in het bloed, een o.i. afdoend bewijs, dat de enting bij de caviae niet was aangeslagen.

Ten einde na te gaan of passage door wilde ratten mogelijk verhooging van de virulentie zou geven, werden twee jonge wilde ratten met ongeveer ½ c.c. spirillen houdend bloed intraperitoneaal ingespoten. Bij een van deze ratten konden wij bij zeer nauwgezet onderzoek nooit spirillen in het bloed vinden. Bij de andere zagen wij na een en twintig dagen een enkele spiril in het bloed. Enkele dagen later konden wij zelfs nog een lichte toeneming constateeren maar na dertig dagen gelukte het niet meer de spirillen aan te toonen en steeds bleef hierna het bloedonderzoek negatief. Op den zestienden dag na de infectie werd het bloed van deze rat bij eene andere ingespoten, die na negentien dagen een enkele spiril in het bloed vertoonde. Hierna is echter nooit meer een

exemplaar te vinden geweest. De overenting op een volgende rat sloeg niet aan en hiermede was dus deze poging mislukt.

Een konijn, dat met dezen stam werd ingespoten, bleek evenals de cavia ongevoelig voor deze infectie te zijn. Er trad geen reactie op, geen lymphklierzwelling en ook konden in het serum later geen antistoffen worden aangetoond. Aangezien wij voor deze proeven geen aap meer tot onze beschikking hadden, was het ons onmogelijk een oordeel te vormen omtrent de gevoeligheid van apen voor dezen stam.

2. Rat-stammen.

Daar de drie stammen van Amsterdamsche ratten zich in hoofdzaak gelijk gedroegen, zullen wij deze gezamenlijk bespreken en waar dit noodig mocht zijn op de verschillen wijzen.

De overbrenging van deze spirillen op witte muizen gelukte zonder uitzondering en de infectie met deze stammen verliep volkomen gelijk aan die met de bovenbehandelde muis-stam. Slechts eenmaal vonden wij bij de sectie van een muis, die gestorven was, nadat zij langen tijd spirillen in het bloed had geherbergd, een vrij sterke lymphklierzwelling. Verder werden bij talrijke secties van muizen, die veel spirillen vertoonden, nooit afwijkingen gevonden. Ook de mortaliteit was niet hooger dan normaal.

De caviae werden op drie verschillende wijzen geïnfecteerd.

A. Door den beet van ratten, die spirillen in het bloed hadden.
B. Door subcutane injectie van spirillen houdend bloed.
C. Door intraperitoneale injectie van spirillen houdend bloed.

A. **Infectie door den beet.** In het geheel werden tien caviae door spirillen dragende ratten gebeten. Hiervan stierven binnen enkele weken vier aan pseudotuberculosis rodentium, voordat het ons gelukt was in het bloed de spirillen te vinden. Het bleek echter, dat een muis, die kort voor den dood met het bloed van een dezer caviae, R 14, geënt was, na eenigen tijd spirillen in het bloed had. Bij deze cavia was dus de infectie door den beet van de rat tot stand gekomen. Van de overige zes konden bij drie nooit spirillen in het bloed worden aangetoond, noch direct noch door bloed bij muizen in te brengen. Er traden bij deze dieren ook geen ziekteverschijnselen op, behalve dat de gebeten poot meerdere weken hard gezwollen bleef.

Bij de andere drie caviae (R. 4, R. 23 en R. 24) was het

onderzoek op spirillen na een incubatie-tijd van 23, 25 en 13 dagen positief. Bij deze drie dieren was in aansluiting aan de beetwonde terstond een vrij sterke zwelling van den poot opgetreden met hieraan gepaard eene regionaire lymphklierzwelling. De zwelling nam na enkele dagen wel iets af maar bleef toch meerdere weken bestaan en zelfs na een maand was de gebeten poot nog dikker dan de andere. Cavia R. 4 kreeg den dag na den beet eene temperatuurstijging tot 39.6°, daarna bleef de temperatuur normaal tot 17 dagen later weer temperatuursverhooging optrad. Hierna bleef het koortsverloop remitteerend met toppen tot 40°. Van eene toeneming van de zwelling bij een koortstop was nooit iets te merken. Van tijd tot tijd trad eene lichte conjunctivitis op, die slechts enkele dagen duurde, terwijl in het conjunctivaal secreet nooit spirillen waren aan te toonen. Het gewicht, dat aanvankelijk iets gedaald was, steeg daarna, tot tien dagen voor den dood eene snelle afneming intrad. De spirillen, die steeds in zeer gering aantal aanwezig waren gedurende de ziekte, namen de laatste week vrij sterk in aantal toe. Het dier stierf op den vijftigsten dag. Bij de sectie werden behoudens vermagering, lichte algemeene lymphklierzwelling en bloedrijkdom van lever, nieren en bij-nieren, geen afwijkingen gevonden. Het gelukte ons niet in uitstrijk-preparaten of coupes van de weefsels, gekleurd volgens Levaditi, spirillen te vinden. De beide andere caviae, R. 23 en R. 24, zijn na 84 en 81 dagen nog in leven. De eerste is in gewicht afgenomen, de tweede toegenomen. Bij beide was, evenals bij de vorige caviae, de gebeten poot sterk gezwollen. Het temperatuursverloop vertoonde echter niet die sterke schommelingen, die wij bij de vorige zagen. Oogverschijnselen hebben wij bij deze dieren niet waargenomen. Bij R. 23 zijn slechts sporadisch spirillen in het bloed aan te toonen geweest. R. 24 daarentegen had op den 35sten dag een zeer groot aantal spirillen in het bloed, dat echter terstond weer afnam en daarna gering bleef, zoodat zij slechts één enkele maal te vinden waren. Dit dier had gedurende een week vrij sterke conjunctivitis en rhinitis, waarbij evenwel nooit spirillen in het secreet voorkwamen. In aansluiting hieraan trad zwelling van de oogleden met haaruitval om de oogen en op den neus op. De achterpooten en buik werden eveneens kaal, zoodat daar nu bijna de geheele beharing verdwenen is.

Uit het bovenstaande blijkt, dat de beet van eene geïnfecteerde rat in staat is bij caviae eene ziekte te verwekken, waarvan de

voornaamste symptomen zijn: zwelling van den gebeten poot met regionaire lymphklierzwelling, koorts, haaruitval en oogverschijnselen. Deze symptomen zijn echter niet steeds bij alle dieren aanwezig.

B. **Subcutane infectie.** In het geheel werden 18 caviae onderhuids geënt met bloed van muizen, ratten of caviae besmet met spirillen van ratten afkomstig. De infectie sloeg bij al deze dieren aan, behalve bij een, dat een week na de inspuiting overleed aan pseudo-tuberculose. Hieruit blijkt dus, dat de caviae voor de infectie met deze stammen gevoelig zijn. Steeds trad na enkele dagen, het kortste drie, het langste tien, zwelling op van de injectie plaats, gepaard met regionaire lymphklierzwelling. Het temperatuursverloop was sterk wisselend, dikwijls trad reeds in het begin koorts op, terwijl deze dan verliep als een continua omstreeks 39.5°, vele malen gevolgd door een tijdperk met sterke remissies. Dat de infectie met een bepaalden ratstam steeds eenzelfde koortstype zou vertoonen, valt uit de temperatuurlijsten niet af te leiden. Wij vonden de spirillen gemiddeld na elf dagen in het bloed, het kortste na drie, het langste na achttien dagen. Dikwijls konden wij waarnemen, dat niet op het hoogtepunt van de koorts maar pas een of twee dagen later de spirillen in het bloed aanwezig waren[1]). Het viel ons op, dat sommige dieren na drie tot vijf weken eene periode van enkele dagen doormaakten, waarin zij een buitengewoon groot aantal spirillen in het bloed herbergden (R. 21, R. 22, R. 24, R. 26, R. 30, R. 32), waarna dan een tijdperk kwam, waarin slechts enkele spirillen aanwezig waren, terwijl het ten slotte soms niet meer mogelijk was bij nauwkeurig onderzoek nog spirillen aan te toonen. Andere dieren daarentegen vertoonden steeds enkele spirillen in het bloed tot veel later, kort voor den dood, het aantal toenam (R. 4, R. 25, R. 19, R. 28). Bij een derde groep was het aantal gedurende het geheele ziekteverloop gering, nooit werd eene vermeerdering waargeno-

[1]) Dit komt overeen met waarnemingen bij patienten, b.v. van Row, die nooit muizen kon infecteeren met bloed ontnomen aan patienten op het hoogtepunt van de koorts. Dat ook in het geval van Van Dijk geen parasieten werden gevonden, kan zeer goed op deze eigenaardigheid berusten. Wij meenen dan ook, dat het noodzakelijk is bij gevallen verdacht van rattebeet-ziekte vooral na het hoogtepunt van de koorts muizen met bloed te enten om een positief resultaat te krijgen.

men, zelfs gelukte het dikwijls niet ze aan te toonen. (R. 16, R. 17, R. 23.)

Door cavia-passage (R. 17, R. 22, R. 25, R. 30, R. 32, R. 36) trad geen verhooging van virulentie op; wij constateerden slechts, dat de zwelling op de entplaats over het algemeen enkele dagen eerder optrad bij infectie met spirillen, die eenige caviae hadden gepasseerd, dan bij inenting met spirillen, direct uit de rat (R. 6, R. 17, R. 42), terwijl bij enting direct uit de rat de spirillen over het algemeen ook iets later in het bloed waren aan te toonen. Ten einde te zien of het verblijf in witte muizen invloed op de virulentie van de spirillen had gehad, hebben wij een cavia, R. 41, geënt met een ratstam, die gedurende 97 dagen in witte muizen was geweest. Het verloop van de ziekte bij deze cavia vertoonde geen verschil met dat van de andere.

Bij twee caviae (R. 17 en R. 6) traden ernstige verschijnselen van conjunctivitis en keratitis op. De oogspleet werd nauw, de dieren waren lichtschuw. Er was bij sterke belichting, zooals Prof. Zeeman constateerde, eene lichte boogvormige troebeling in de cornea te zien; deze nam spoedig in intensiteit toe, zoodat het beeld veel overeenkomst vertoonde met een arcus senilis. De heele cornea werd langzamerhand grijsachtig en er traden vaatuitgroeiïngen in de cornea op. Na enkele dagen nam de troebeling af en waren slechts nog bij nauwkeurig onderzoek enkele grijze vlekken waar te nemen. Bij microscopisch onderzoek van een van deze oogen konden wij in de cornea geen spirillen aantoonen.

Bij meerdere caviae traden gedurende enkele dagen lichte verschijnselen van conjunctivitis op. De dieren waren lichtschuw en hadden eene nauwe oogspleet. Prof. Zeeman constateerde hierbij eenmaal eene lichte troebeling van de cornea, die echter niet boogvormig was. Na enkele dagen verdwenen ook hier al deze verschijnselen en waren de oogen weer normaal. Eenige malen trad een recidief van deze verschijnselen op, zonder dat evenwel ooit een ernstiger graad bereikt werd. Noch in de lichte, noch in de zware gevallen konden wij in het conjunctivaal secreet spirillen aantoonen. Dit komt dus niet overeen met de bevindingen van Mooser.

Meerdere weken na de infectie, gewoonlijk eerst na zes tot acht weken, beginnen bij sommige caviae de haren aan de achterpooten uit te vallen en vertoont de huid eene lichte schilfering. Het proces schrijdt van hieruit voort over den buik en ook de

voorpooten worden kaal. De haren om de oogen, op den neus en de lippen vallen ook dikwijls uit, hoewel niet in zoo'n sterken graad als aan den onderkant van het lichaam. Een enkele maal komen ook kale plekken op den rug voor. Verschijnselen van haaruitval, zoowel in lichten als in ernstigen graad, traden op bij infectie met den Mauritskade- en Zeelandia-stam, nooit na enting met den Abattoir-stam. Van deze achttien caviae zijn zes gestorven, na 80, 65, 67, 63, 12 en 79 dagen. Bij geen van deze dieren waren macroscopische veranderingen te zien, behalve lichte lymphklierzwelling, bloedrijkdom van de inwendige organen en enkele necrotische haardjes in de lever en eenmaal verschijnselen, die wezen op pseudo-tuberculose. Ook de Levaditi-preparaten leverden geen bijzonderheden op en spirillen werden slechts eenmaal gevonden, namelijk in de nier van R. 16. Wel waren in een geval na den dood in het bloed en afstrijkpreparaten van de lymphklieren nog talrijke spirillen aanwezig.

Een verschil in mortaliteit van den Mauritskade- en Abattoirstam viel uit onze gegevens niet af te leiden, het aantal infecties met den Zeelandia-stam is te gering om conclusies te veroorloven.

C. **Intraperitoneale Injectie.** De intraperitoneale injectie is slechts driemaal toegepast. Eenmaal stierf de cavia kort na de inspuiting aan peritonitis, bij de andere dieren sloeg de infectie aan na 15 en 17 dagen. Een hiervan, R. 19, stierf na 24 dagen, terwijl er talrijke spirillen in het bloed en afstrijkpreparaten van een lymphklier te vinden waren. De andere, R. 28, had gedurende vier weken slechts enkele spirillen in het bloed, na 12 weken echter trad eene sterke toeneming op, terwijl het dier zeer snel in gewicht afnam en spoedig daarna stierf. Daar de ziekte bij deze infectiewijze zonder bijzonderheden verliep, hebben wij steeds de subcutane injectie toegepast, omdat hierbij de zwelling van de entplaats steeds eene aanduiding is van het al of niet aanslaan der infectie, een syndroom, hetwelk bij de intraperitoneale injectie ontbreekt.

Eene poging om wilde ratten met deze stammen te infecteeren gelukte door intraperitoneale injectie van spirillenhoudend bloed. Na 12 dagen werden de eerste spirillen in het bloed van het besmette dier aangetoond en steeds zijn zij hierna aanwezig ge-

bleven, hoewel in gering aantal. Eveneens zijn wij er in geslaagd door den beet van een rat, die spirillendrager was, eenmaal de infectie op eene andere rat over te brengen.

Twee apen, beide macacus rhesus, zijn onderhuids in een poot geënt met spirillenhoudend bloed. Bij beide dieren trad koorts, zwelling op de injectieplaats en sterke regionaire lymphklierzwelling op. Daar de eerste aap in aansluiting aan eene verwonding bij het vangen opgedaan een sepsis heeft gekregen, is het temperatuursverloop van dit dier voor ons van geen waarde. Hij is van deze infectie genezen en was na 2½ maand geheel gezond en zoo goed als koortsvrij. Een enkele maal trad nog een top op tot 39°. Het is ons nooit gelukt, noch door direct onderzoek, noch door inspuiting van bloed bij muizen spirillen bij dezen aap aan te toonen.

De andere aap kreeg koorts, zwelling op de entplaats en lymphklierzwelling in de lies. Spirillen werden bij herhaald onderzoek niet gevonden. Dat hij toch geïnfecteerd was, werd bewezen door enting van een muis met bloed van den 10den dag, die na een incubatie van zeventien dagen spirillen in het bloed had. Hierna hebben wij nooit meer eene muis met dit bloed kunnen besmetten. De temperatuur van dezen aap bleef hoog en vertoonde niet de karakteristieke toppen van de rattebeet-ziekte. Na 52 dagen stierf hij en bij de sectie bleek, dat een uitgebreide miliair tuberculose in aansluiting aan een longhaard de doodsoorzaak was. Ook deze temperatuurcurve heeft dus voor ons geen waarde.

Eenige konijnen zijn subcutaan geënt met een dosis spirillenhoudend bloed. Geen van deze dieren vertoonde eenige reactie, noch in de temperatuurlijn, noch in het lymphkliersysteem. Dit komt dus niet overeen met de waarnemingen van Van Lookeren Campagne, die eene klierzwelling vermeldt. Wel konden later antistoffen in het bloed van een van deze konijnen worden aangetoond.

3. **Mensch-stam.**

Half Maart 1925 kregen wij uit Engeland eenige muizen, die besmet waren met spirillen afkomstig van een geval van rattebeetziekte van ongeveer 1½ jaar geleden. Met het bloed hiervan zijn muizen geënt en hierbij verliep de infectie op dezelfde wijze als bij de andere stammen. De onderhuidsche inspuiting van

dit bloed bij vier caviae was in staat deze dieren ziek te maken. Hierbij viel ons op, dat er reeds na drie tot vijf dagen, dus vroeger dan bij de ratstammen, zwelling van de entplaats optrad maar dat het daarentegen vrij lang duurde voor wij de eerste spirillen in het bloed konden aantoonen, gemiddeld eerst na zestien dagen. Overigens verliep de ziekte bij deze caviae volkomen gelijk aan die bij dieren met de rat-stammen geënt. Gevallen van ernstige conjunctivitis en keratitis kwamen niet voor, wel traden meerdere aanvallen van lichte conjunctivitis op. Haaruitval kwam slechts in lichten graad voor en de dieren namen toe in gewicht. Daar de duur van de observatie slechts over 52 dagen loopt, valt over de mortaliteit nog geen oordeel te vellen. Virulenter dan de rat-stammen is deze stam echter niet.

Ook met dezen stam werd een aap onderhuids ingespoten in den achterpoot. Reeds spoedig na de enting trad roodheid en infiltraat om de injectieplaats op en de temperatuur steeg den tweeden dag tot 38.3°, den volgenden dag tot 39.4°. Na een korte daling steeg de temperatuur opnieuw tot op den achtsten dag 40° werd bereikt met hieraan gepaard eene hevige lymph-adenitis, zoodat het dier kreupel liep. Na drie dagen zakte de temperatuur en ook de ontstekingsverschijnselen namen af. Er volgden nu met tusschenpoozen van een of twee dagen telkens nieuwe koorts-aanvallen tot 39.4°, die echter niet meer met lymphklierzwelling gepaard gingen. Na vier weken bleef de temperatuur schommelen om de 37.5° en 38°, terwijl nog tweemaal eene temperatuur van 38.6° bereikt werd. De aap maakte den indruk weer geheel gezond te zijn.

Het gelukte ons ook bij dezen aap niet door onderzoek in het donkere veld spirillen aan te toonen. Wel had eene muis, die op den dertienden dag geënt was, na zeventien dagen spirillen in het bloed, aldus het bewijs leverende, dat de infectie werkelijk was aangeslagen. Een exantheem, zooals een enkele maal ook bij apen te zien is, werd door ons niet waargenomen. Gedurende de talrijke aanvallen nam het gewicht af; zoodra de temperatuur daalde, nam het dier weer in gewicht toe.

Een konijn met dezen stam ingespoten vertoonde geen reactie, wel bleek later, dat in het bloed antistoffen waren gevormd.

Onderhuidsche inspuiting bij eene volwassen wilde rat was in staat deze spirillendrager te maken.

Meerdere malen werden in ons laboratorium menschen gebeten

door muizen geïnfecteerd met de mensch-, rat- of muisstam; het bleek, dat deze verwonding steeds zonder gevolgen bleef. Dit kan berusten op het feit, dat muizen niet in staat zijn op dezelfde wijze als de ratten de infectie over te brengen of dat de desinfectie van de wond steeds de besmetting stuitte.

No. cavia	Wijze van infecteeren	Stam	Bloed afkomstig van	Datum	Begin van zwelling na	1ste maal spirillen aangetoond na	Oogverschijnselen	Haaruitval
R_4	beet	abattoirrat	—	13-XII-'24	1 dag	23 dagen	lichte conjunctivitis	—
R_{14}	„	Zeelandia rat	—	2-I -'25	7 d.	20 d. via muis	—	—
R_{23}	„	abattoirrat	—	29-I -'25	1 d.	25 d.	—	—
R_{24}	„	Maurits-kaderat	—	31-I -'25	2 d.	13 d.	sterke conjunctivitis	sterk aan bui pooten en sn
R_6	subcut. inj.	„	rat	11-XII-'24	8 d.	11 d.	sterke conjunctivitis en keratitis O D S	sterk aan bu en pooten
R_{15}	„	„	cavia R_6	5-I -'25	7 d.	15 d.	lichte conjunctivitis	—
R_{16}	„	„	„	5-I -'25	7 d.	14 d.	—	—
R_{20}	„	„	cavia R_{16}	23-I -'25	7 d.	12 d.	—	—
R_{21}	„	„	cavia R_4	26-I -'25	8 d.	9 d.	—	licht aan de achterpooten
R_{26}	„	„	cavia R_{21}	5-II -'25	5 d.	11 d.	sterke conjunctivitis	sterk aan de achterpooten
R_{35}	„	„	„	1-III -'25	5 d.	11 d.	—	—
R_{41}	„	„	muis 34	16-III -'25	4 d.	16 d.	—	—
R_{28}	intraperit. inj.	„	emulsie klieren R_{19}	9-II -'25	—	17 d.	—	—
R_{19}	„	„	muis 8	16-I -'25	—	15 d.	—	—
R_{17}	subcut. inj.	abattoirrat	rat	6-I -'25	8 d.	18 d.	sterke conjunctivitis en keratitis	—
R_{32}	„	„	cavia R_{30}	24-II -'25	7 d.	10 d.	—	—
R_{22}	„	„	cavia R_{17}	26-I -'25	8 d.	9 d.	—	—
R_{25}	„	„	cavia R_{22}	5-II -'25	6 d.	10 d.	—	—
R_{30}	„	„	cavia R_{25}	17-II -'25	5 d.	6 d.	—	—
R_{42}	„	„	rat	25-III -'25	10 d.	15 d.	—	—
R_{36}	„	„	cavia R_{32}	6-III -'25	5 d.	5 d.	—	—
R_{33}	„	Zeelandia rat	muis 25	25-II -'25	3 d.	3 d.	lichte conjunctivitis en keratitis	sterk aan buik en poote
R_{34}	„	„	cavia R_{33}	1-III -'25	8 d.	11 d.	lichte conjunctivitis	licht aan de achterpooten
R_{37}	„	mensch	muis L	16-III -'25	3 d.	16 d.	lichte conjunctivitis	licht aan de achterpooten
R_{38}	„	„	„	16-III -'25	3 d.	19 d.	—	licht aan de achterpooten
R_{39}	„	„	„	16-III -'25	4 d.	15 d.	—	licht aan de achterpooten
R_{40}	„	„	„	16-III -'25	5 d.	16 d.	—	licht aan de achterpooten

N DE INFECTIEPROEVEN

wicht bij vang	Gewicht bij dood	Gewicht bij afloop onderzoek op 8-V-'25	Dood	Sectie	Spirillen bij den dood	8-V-'25 Spirillen bij einde h. onder
0 gram	205 gram		na 50 dagen	algemeene lymphklierzwelling, organen bloedrijk	+ +	
0 „	370 „		„ 20 „	..... pseudotuberculosis rodentium	—	
5 „		320 gram				+
0 „		330 „				+
0 „	300 „		„ 137 „	lichte pericarditis, kleine necrotische plekjes in lever	+	
0 „	395 „		„ 81 „	organen bloedrijk, necrotische haardjes in lever	+	
0 „	340 „		„ 66 „	bloeding in bijnieren, necrotische haardjes in lever	—	
0 „	200 „		„ 24 „	..... pseudotuberculosis rodentium	+	
0 „	175 „		„ 34 „	peritonitis	—	
0 „		300 „				—
5 „	140 „		„ 13 „	geen afwijkingen	—	
5 „		300 „				+ +
5 „		355 „				+ + +
5 „	215 „		„ 24 „	algemeene lymphklierzwelling	+ + +	
0 „	420 „		na 49 dagen door geweld	longhaarden, necrotische haardjes in lever	+	
5 „	160 „		na 41 dagen	..... pseudotuberculosis rodentium	—	
0 „	215 „		„ 67 „	geen afwijkingen	+	
0 „	300 „		„ 68 „	geen afwijkingen	+ + +	
5 „	270 „		„ 79 „	..... pseudotuberculosis rodentium	—	
5 „		320 „				+
0 „	210 „		na 44 dagen door geweld	geen afwijkingen	+	
0 „		355 „				—
5 „		290 „				—
0 „		290 „				—
5 „		325 „				—
5 „		315 „				—
0 „		280 „				—

VIERDE HOOFDSTUK.

IMMUNITEITSREACTIES.

Reeds spoedig na de ontdekking van Futaki zijn in Japan onderzoekingen gedaan naar de aanwezigheid van immuunstoffen bij menschen en dieren, die aan rattebeet-ziekte geleden hadden of nog leden. De eerste opgaven hieromtrent stammen van Ido, Ito, Wani en Okuda [1]), die het serum van patienten met Sodoku lieten inwerken op spirillenhoudend bloed van een proefdier. Zij constateerden, dat dit serum eene doodende en lyseerende werking had op de spirillen. Eene verdunning 1 : 2 was duidelijk werkzaam, eene verdunning 1 : 4 had echter reeds geen invloed meer. Eveneens werd de Pfeiffersche proef gedaan door 1 c.c. geïnfecteerd bloed met 2 c.c. van dit serum in te spuiten. Het bleek dan, dat het serum tegen de infectie beschutte. Indien dit serum bij muizen met spirillen intraveneus geïnjiceerd werd, waren na dertig minuten alle spirillen verdwenen. Wel kwamen zij echter na eenigen tijd weer terug.

Vergelijkende studies van verschillende stammen, wat betreft de dier-pathogeniteit en serologie, zijn verricht door Kusama, Kobayashi en Kasai [2]). Zij hebben gebruik gemaakt van stammen gevonden bij menschen, wilde ratten en veldmuizen. Als constant symptoom vonden zij bij de caviae slechts gewichtsverlies en haaruitval. Koorts trad steeds op bij infectie met mensch- en ratstam, slechts zelden bij den stam van de veldmuis. Ook de aap vertoonde koorts na inspuiting met de eerste twee stammen, terwijl ook hier de veldmuisstam niet in staat was koorts te verwekken. Zij konden bij caviae, wilde ratten en muizen geen immuunstoffen vinden, terwijl het bloed van apen, die hersteld waren, in vrij groote hoeveelheid antistoffen tegen de spirillen bevatte. Zij namen voor deze proeven serum van een reconvalescenten aap, vermengden dit met eene even groote hoeveelheid sterk geïnfecteerd muizenbloed en bekeken dan een druppel hiervan in het donkere veld. Indien hierin de spirillen zich slechts langzaam voortbewogen en na vijf tot vijftien minuten stil lagen, noemden zij dit serum positief. Op deze wijze hebben zij de sera van apen geïnfecteerd met deze drie stammen vergeleken in hunne werking op de bewegelijkheid van de spirillen. Zij vonden hierbij, dat het

[1]) Journ. of Exp. Med. 1917, blz. 377, XXVI.

[2]) Journ. of Infect. Diseas. 1919, blz. 366.

serum met den veldmuisstam verkregen geen of slechts eene zeer zwakke werking had op den mensch- en ratstam en zelfs op den homologen stam bijna geen invloed had. De sera verkregen met den mensch- en ratstam hadden eene sterk doodende werking op alle drie stammen. Bovendien zagen zij, dat niet alleen enting met den mensch- en den ratstam, maar eveneens enting met den veldmuisstam, de apen ongevoelig voor reïnfectie met elk van de drie stammen maakte. Op grond van deze proeven besluiten zij tot de gelijkheid van deze stammen.

Over ditzelfde onderwerp zijn onderzoekingen verricht door Kobayashi en Kodama [1]). Zij zagen, dat de stammen uit de Microtus Montebelli van twee verschillende landstreken zich niet gelijk gedroegen. De stammen uit Niigata waren niet in staat apen ziek te maken, terwijl de stammen uit Saitama hetzelfde ziektebeeld bij den aap verwekten als de mensch- en ratstam. De caviae waren gevoelig voor de infectie met den Saitama-stam, de Niigata-stam had ook voor deze dieren geen nadeelige gevolgen. Serologisch gedroegen de Saitama-stammen zich gelijk met de mensch- en ratstammen, op eene uitzondering na, waar slechts werking op den homologen stam was waar te nemen. De onderzoekers vragen zich af of dit het gevolg is van de individualiteit van dezen aap. Het serum van den Niigata-stam had slechts een zwakke werking op de homologe en geen invloed op andere stammen. Toch bleek ook hier bij de herenting, dat de infectie met den Niigata-stam een zekeren graad van immuniteit had verwekt. In vitro was geen werking van het Niigata-serum op de spirillen waar te nemen.

In eene publicatie, die wij slechts als referaat konden lezen, komt Kasai [2]) in 1921 op grond van zijne onderzoekingen tot de conclusie, dat de spiril van de rattebeet-ziekte en de iets grootere vormen, die bij ratten en muizen voorkomen, identiek zijn. In het volgende jaar echter geeft hij [3]) als zijne meening te kennen, dat de spirillen van verschillende herkomst te verdeelen zijn in twee variëteiten, namelijk de spirochaeta laverani var. morsus muris, die vertegenwoordigd wordt door de spirochaet van de rattebeet-ziekte en eene groote virulentie heeft voor dieren en de spirochaeta

---

[1]) Kitasato Arch. o. Exp. Med. 1919, vol. 3, blz. 199.

[2]) Chuwo Juikwai Zasshi 1921, XXXIV, no. 7. Ref. Trop. Diseas. Bull. 1922, XIX, blz. 559.

[3]) Saikingaku Zasshi 1922, no. 324. Ref. Japan Medic. World, 1923, III, blz. 54.

laverani var. muris, die weinig virulent is voor dieren en vertegenwoordigd wordt door spirochaeten van albino-muizen en misschien van veldmuizen.

Van Lookeren Campagne vermeldt, dat konijnen op inspuiting met den menschelijken stam reageeren met regionaire lymphkierzwelling zonder verdere symptomen. Hij vond echter dat, hoewel er dus bijna geen ziekteverschijnselen waren opgetreden, er een belangrijke vorming van antistoffen had plaats gehad, hetgeen hieruit bleek, dat in een mengsel van 1 druppel serum en 2 druppels spirillen houdend bloed na twee minuten de spirillen onbewegelijk en er na drie minuten geen spirillen meer te vinden waren. Wanneer hij bij muizen dit serum en virus-houdend materiaal inspoot, bleek dat het virus geneutraliseerd was en er geen infectie optrad. Voorts was eene cavia, die eene lichte infectie had doorstaan, onvatbaar voor eene tweede inspuiting, ditmaal met een ruime dosis virus. Het serum van dit dier in dezelfde hoeveelheid als dat van een patient was niet in staat eene gelijke werking op de spirillen uit te oefenen. Hij deed verder immuunproeven met serum van patienten met rattebeet-ziekte en komt tot de slotsom, dat het serum het vermogen krijgt eene aanzienlijke dosis virus te neutraliseeren door dooden en oplossen der spirillen. Deze eigenschap van het serum ontstaat tijdens de infectie, wordt sterker naarmate de infectie langer duurt en kan zeer aanzienlijk worden, zonder dat daarmede het organisme geheel van den indringer bevrijd behoeft te worden.

Eigen Onderzoek. Daar wij niet in het bezit waren van serum van patienten met rattebeet-ziekte, hebben wij ons tevreden moeten stellen met serum van apen. Wij hadden drie apen te onzer beschikking, waarvan een was geïnfecteerd met den menschelijken stam, een met den Abattoir-rat-stam en een met den Mauritskade-ratstam. Ter vergelijking hadden wij serum van een normalen aap.

Indien men van het serum van dezen laatste eene kleine hoeveelheid vermengde met eene even groote hoeveelheid spirillenhoudend bloed van eene muis en een kleinen druppel hiervan in het donkere veld onderzocht, was geen inwerking van dit serum te zien op de spirillen. Zij bleven even snel in hunne beweging en na een uur was geen vermindering van het aantal of afneming van de snelheid waar te nemen. Namen wij echter serum van den aap, die met den Mauritskade-stam geënt was en voegden dit bij

bloed van eene muis met denzelfden stam geïnfecteerd, dan was geen enkele levende spiril meer te vinden, er was slechts eene enkele te zien, die stil lag. Na ongeveer een uur was in het preparaat zelfs geen doode spiril meer te vinden. Dit serum heeft dus eene krachtige doodende en lyseerende werking op den homologen spirillenstam.

Vervolgens hebben wij dit serum verdund met eene physiologische zout-oplossing en dit bij het geïnfecteerde bloed gevoegd. Op deze wijze hebben wij verdunningen gemaakt van 1 : 20, 1 : 40, 1 : 100 en 1 : 200. Van te voren was eene proef gedaan of eene physiologische zoutoplossing invloed had op de spirillen. Indien het bloed in gelijke hoeveelheid met deze oplossing vermengd werd, was geen schadelijke werking hiervan op de spirillen te bemerken. Bij eene verdunning van het serum 1 : 20 waren meerdere levende spirillen in het preparaat. Zij bewogen zich echter niet meer zoo vlug, zij bleven op de plaats, waar zij waren en maakten slechts schokkende bewegingen. Sommige lagen geheel stil, sloegen alleen nog een enkele maal krampachtig de flagellen uit. Ook hierin waren enkele doode exemplaren aanwezig. Een uur later was nog slechts een enkele levende spiril te zien en ook het aantal doode was zeer gering; er was dus hier eveneens lysis opgetreden. Een verdunning 1 : 40 leverde ongeveer hetzelfde resultaat op; pas bij eene verdunning 1 : 100 was geen werking meer te bespeuren.

V SERUM GEZONDE AAP

Verdunning	1 : 2										
	levend	dood									
Mauritskaderat-stam Muis 37)	+++	—									na 5 min.
	+++	—									na 1 uur
Abattoirrat-stam	+++	—									na 5 min.
Cavia 25)	+++	—									na 1 uur
Mensch-stam	+++	—									na 5 min.
Muis 44)	+++	—									na 1 uur
Muis-stam	+++	—									na 5 min.
Muis 35)	+++	—									na 1 uur

Indien wij dit serum op de andere stammen, zoowel den Abattoir-rat als den mensch- en muis-stam lieten inwerken, was er tot in eene verdunning van 1 : 200 eene doodende en lyseerende werking merkbaar, het sterkste bij den muisstam, waar na een uur bij deze geringe serum-toevoeging geen enkele levende spiril meer aanwezig was. Bij dit serum werd dus niet de homologe stam het sterkste beïnvloed maar juist de muisstam, die in dierpathogeniteit het verst van dezen stam afstaat.

Toen wij aap 1, die met den Mauritskade-stam geïnfecteerd was, vier maanden later eene injectie gaven van bloed, dat eene groote hoeveelheid spirillen van den mensch-stam bevatte, bleek, dat deze infectie niet aansloeg. Er trad geen zwelling of roodheid van de injectieplaats op, evenmin lymphklierzwelling of andere ziekte-verschijnselen. De Mauritskade-stam had dus eene immuniteit verwekt, die beschutte tegen de infectie met den menschstam, die voor een anderen aap sterk virulent was gebleken.

Het serum van aap 2, die geënt was met den Abattoir-rat-stam, bevatte eveneens antistoffen tegen de verschillende spirillen-stammen. Hierbij zagen wij, dat de homologe stam iets sterker

I SERUM AAP I (Mauritskaderat-stam)

Verdunning	1 : 2		1 : 20		1 : 40		1 : 100		1 : 200		
	levend	dood	levend	dood	levend	dood	levend	dood	levend	dood	
Mauritskaderat-stam	—	+ (++)	+ +	+	+ +	(+)	+ + +	—			na 5 min.
(bloed muis 37)	—	(+ + +)	+	+ (+)	+	+ (+)	+ + +	—			na 1 uur
Abattoirrat-stam	—	(+ + +)	—	+ (++)	+	+ +	+ +	+	+ +	+	na 5 min.
(bloed cavia 25)	—	(+ + +)	—	(+ + +)	—	+ + (+)	—	+ + (+)	+	+ +	na 1 uur
Zeelandiarat-stam	—	+ (++)	+	+ (+)	+ +	+	+ +	+	+ + +	—	na 5 min.
(bloed muis 54)	—	+ + (+)	+	+ (+)	+ +	+	+ +	+	+ +	+	na 1 uur
Mensch-stam	—	+ (++)	+	+ (+)	+ +	+	+ +	+	+ +	+	na 5 min.
(bloed muis 44)	—	(+ + +)	—	+ (++)	—	+ (++)	+	+ (++)	+	(+ +)	na 1 uur
Muis-stam	—	+ (++)	—	+ (++)	+ +	+	+	+ (+)	+ +	+	na 5 min.
(bloed muis 35)	—	(+ + +)	—	+ (++)	—	+ (++)	—	+ (++)	—	+ (++)	na 1 uur

(+) = dood en gelyseerd, dus niet te zien.

werd beïnvloed dan de andere stammen, zoodat bij eene verdunning van 1 : 200 nog slechts een enkele levende spiril aanwezig was, terwijl de muisstam in die verdunning niet meer beïnvloed werd en ook de Mauritskade-stam nog talrijke levende exemplaren telde.

Serum van aap 3, geënt met den mensch-stam, op den vier-en-twintigsten dag na de inenting genomen, was niet in staat de verschillende spirillenstammen te dooden. Zelfs bij toevoeging van onverdund serum bleven de spirillen in leven maar na een half uur kwamen zij niet meer van hunne plaats en bewogen zich slechts langzaam. Een zekere inwerking was hier dus waar te nemen, echter niet zoo sterk als bij de andere apen. Omdat wij meenden, dat dit het gevolg zou kunnen zijn van het feit, dat deze aap nog geen tijd genoeg gehad had om antistoffen te vormen, hebben wij elf dagen later deze proeven nog eens herhaald. Inderdaad waren toen de reacties duidelijk en verliepen, zooals in tabel 3 is aangegeven. De hoeveelheid antistoffen was echter ook toen nog niet zoo groot als bij de andere apen, waar de infectie reeds twee maanden geleden geschied was. Toch had eene verdunning 1 : 200 nog duidelijke werking op de spirillen; ook hier werd de homologe stam niet het sterkste beïnvloed.

Wij meenen, dat uit deze serologische reacties geen conclusies te trekken zijn omtrent verschillen tusschen de ratstammen onderling en den menschstam. Een serum, dat antistoffen bevat verwekt door een van deze stammen, beïnvloedt eveneens de andere, hoe-

SERUM AAP II (Abattoirrat-stam)

Verdunning	1 : 2		1 : 20		1 : 40		1 : 100		1 : 200		
	levend	dood	levend	dood	levend	dood	levend	dood	levend	dood	
lauritskaderat-stam loed muis 37)	—	+(++)	+	++	+	++	+	+(+)	++	+	na 5 min.
	—	+(++)	—	+(++)	—	+(++)	++	+	++	+	na 1 uur
battoirrat-stam	—	(+++)	+	+(+)	+	+(+)	++	+	+++	—	na 5 min.
loed cavia 25)	—	(+++)	—	+(++)	—	+(++)	+	+(+)	+	+(+)	na 1 uur
uis-stam	—	+(++)	+	++	+	++	++	+	+++	—	na 5 min.
Muis 35)	—	+(++)	—	+(++)	+	++	++	+	+++	—	na 1 uur

(+) = dood en gelyseerd, dus niet te zien.

wel er een verschil in intensiteit van de werking valt op te merken. Hierbij treden echter geen constante verhoudingen op, zoodat niet een groep zich van de andere onderscheidt.

Het had onze aandacht getroffen, dat bij sommige caviae, na eene periode, waarin zij spirillen in het bloed herbergden, een tijdperk optrad, waarin zoo goed als geen spirillen meer te vinden waren. Met het oog op dit verdwijnen der spirillen uit het bloed hebben wij nagegaan of er antistoffen in dat bloed voorkwamen. Zooals boven vermeld is, wordt dit door Kusama c.s. ontkend, doch Van Lookeren Campagne meent eene onvatbaarheid voor reïnfectie gezien te hebben en vermoedt, dat er wel antistoffen in het bloed voorkomen. Om dit uit te maken hebben wij het bloed van twee caviae, R. 23 en R. 24, waarbij reeds gedurende meerdere weken geen spirillen meer te vinden waren, op antistoffen onderzocht. Daar de spirillenstammen zich ten opzichte van sera met antistoffen ongeveer gelijk gedroegen, beperkten wij ons tot proeven met een stam. Het bleek ons, dat serum van deze caviae in eene verdunning 1 : 2 eene duidelijke werking had op de bewegelijkheid van de spirillen. Meerdere exemplaren kwamen niet meer van hunne plaats en maakten slechts schokkende bewegingen. Na vijftien minuten waren bijna alle dood. Eene verdunning 1: 4 had eveneens nog eenige werking; hier was na

III SERUM AAP III (Mensch-stam)

Verdunning	1 : 2		1 : 20		1 : 40		1 : 100		1 : 200		
	levend	dood	levend	dood	levend	dood	levend	dood	levend	dood	
Mauritskaderat-stam (muis 51)	—	+ (++)	+	+ (+)	+	+ (+)	+	+ (+)	+++	—	na 5 min.
	—	+ (++)	+	+ (+)	+	+ (+)	+	+ (+)	+ +	+	na 1 uur
Zeelandiarat-stam (Muis 54)	—	+ (++)	+ +	+	+++	—	+++	—	+++	—	na 5 min.
	—	(+++)	+ +	+	+ +	+	+ +	+	+ +	+	na 1 uur
Mensch-stam (Muis 49)	—	+ (++)	+ +	+	+ +	+	+ +	+	+++	—	na 5 min.
	—	+ (++)	+	+ (+)	+	+ (+)	+ +	+	+ +	+	na 1 uur
Muis-stam (Muis 50)	—	+ (++)	+	+ (+)	+	+ (+)	+	+ (+)	+ +	+	na 5 min.
	—	++ (+)	+	+ (+)	+	+ (+)	+	+ (+)	+	+ (+)	na 1 uur

(+) = dood en gelyseerd, dus niet te zien,

een half uur de helft dood. De verdunning 1 : 10 had, voor zoover wij konden nagaan, geen invloed meer.

In de contrôle-proef met serum van eene normale cavia bleven de spirillen beweeglijk. Na een uur schoten de spirillen nog ongehinderd heen en weer. Hieruit blijkt dus, dat caviae wel degelijk antistoffen kunnen vormen. Eenige weken na deze proeven konden wij bij deze caviae eene enkele spiril in het bloed aantoonen. De vorming van antistoffen was dus niet zoo groot, dat hierdoor de infectie geheel te niet werd gedaan.

VIII SERUM GEZOND KONIJN

Verdunning	1 : 2		1 : 4		1 : 20		1 : 100		
	levend	dood	levend	dood	levend	dood	levend	dood	
Mensch-stam	+ + +	—							na 5 min.
(bloed muis 56)	+ + +	—							na 1 uur
Mauritskaderat-stam	+ + +	—							na 5 min.
(bloed muis 37)	+ + +	—							na 1 uur
Muis-stam	+ + +	—							na 5 min.
(bloed muis 55)	+ + +	—							na 1 uur

V SERUM KONIJN 368 (Abattoirrat-stam)

Verdunning	1 : 2		1 : 4		1 : 20		1 : 100		
	levend	dood	levend	dood	levend	dood	levend	dood	
Mensch-stam	+	+ (+)	+	+ (+)	+ +	+	+ +	+	na 5 min.
(bloed muis 54)	—	+ (+ +)	—	+ (+ +)	+	+ (+)	+ +	+	na $^1/_2$ uur
Mauritskaderat-stam	+	+ (+)	+	+ (+)	+ +	+	+ + +	—	na 5 min.
(bloed muis 51)	—	(+ + +)	—	(+ + +)	+	+ +	+ + +	—	na $^1/_2$ uur
Muis-stam	+ +	+	+ +	(+)	+ +	+	+ + +	—	na 5 min.
(bloed muis 55)	—	+ (+ +)	—	+ (+ +)	—	+ (+ +)	+ +	+	na $^1/_2$ uur

(+) = dood en gelyseerd, dus niet te zien.

Daar ook muizen, indien zij langen tijd geïnfecteerd zijn, niet meer zoo'n groot aantal spirillen in het bloed herbergen, hebben wij gemeend ook het serum van deze dieren op antistoffen te moeten onderzoeken. Bij herhaald onderzoek konden wij echter nooit eenige inwerking bespeuren van het serum van muizen, zelfs al waren zij meerdere maanden geleden besmet geworden.

Eindelijk hebben wij nog in verband met de vondsten van Van Lookeren Campagne getracht konijnen met onze stammen te immuniseeren. Na de eerste injectie vertoonde het serum van alle

VII SERUM KONIJN 375 (muisstam)

Verdunning	1 : 2		1 : 4		1 : 20		1 : 100		
	levend	dood	levend	dood	levend	dood	levend	dood	
Mensch-stam	+ + +	—							na 5 min.
(bloed muis 54)	+ + +	—							na 1 uur
Mauritskaderat-stam	+ + +	—							na 5 min.
(bloed muis 51)	+ + +	—							na 1 uur
Muis-stam	+ + +	—							na 5 min.
(bloed muis 55)	+ + +	—							na 1 uur

VI SERUM KONIJN 386 (Menschstam, tekort geïmmuniseerd).

Verdunning	1 : 2		1 : 4		1 : 20		1 : 100		
	levend	dood	levend	dood	levend	dood	levend	dood	
Mensch-stam	+ +	+	+ + +	—					na 5 min.
(bloed muis 54)	+	+ (+)	+ + +	—					na 1 uur
Mauritskaderat-stam	+ +	+	+ +	+	+ + +	—	+ + +	—	na 5 min.
(bloed muis 51)	—	+ (++)	+ +	+	+ + +	—	+ + +	—	na 1 uur
Muis-stam	+ +	+	+ + +	—	+ + +	—			na 5 min.
(bloed muis 55)	+	+ (+)	+ + +	—	+ + +	—			na 1 uur

(+) = dood en gelyseerd, dus niet te zien.

drie konijnen niet de minste verandering, de spirillen bleven even-als in het normale serum van een contrôle-dier levend en beweeglijk. De dieren werden nu met tusschenpoozen van een week nog twee keer ingespoten. Lokale of algemeene reacties traden daarbij evenmin als den eersten keer op maar wel hadden de dieren nu immuunstoffen gevormd. Zooals uit tabel V blijkt, was het serum met den ratstam verkregen nog in de verdunning van 1 : 100 in staat de spirillen te dooden.

Bij het serum afkomstig van den menschstam was de werking veel zwakker; de grens van de doodende en lyseerende kracht lag hier bij een verdunning niet grooter dan 1 : 4. Daar wij met dezen stam veel later zijn begonnen te werken, was de tijd voor de immunisatie nog te kort, de voor de hand liggende verklaring van dit verschil.

Het serum van het konijn, dat met den muisstam was ingespoten, waarover de waarnemingen over denzelfden langen tijdsduur liepen als van het konijn met den ratstam behandeld, bevatte in het geheel geen antistoffen. De spirillen bleven, nadat dit serum er aan toegevoegd was, in leven en bewogen zich met dezelfde snelheid door het gezichtsveld als in het contrôle-preparaat, waar geen serum mee gemengd was.

De bovenstaande vergelijkende dierproeven en serumreacties geven de volgende resultaten:

De drie spirillenstammen door ons uit levende ratten geïsoleerd zijn pathogeen voor caviae en voorzoover wij nagingen ook voor apen. Wat de verschijnselen betreft, gedragen deze stammen zich ongeveer gelijk.

De stam, geïsoleerd uit een patient, is eveneens pathogeen voor caviae en maakte ook een aap ziek. De ziekteverschijnselen bij deze dieren komen overeen met die van dieren besmet met de ratstammen.

De stam, dien wij bij witte muizen vonden, is niet in staat caviae ziek te maken, terwijl ook ratten hiermede niet blijvend waren te infecteeren.

Serum van apen, geïnfecteerd met ratstammen of mensch-stam, heeft eene doodende en lyseerende werking op de muis-, rat- en mensch-stammen, zonder dat hierbij een constant verschil in intensiteit valt op te merken.

De mensch- en eene rat-stam zijn in staat, na herhaalde toedie-

ning, bij een konijn antistoffen te verwekken, hoewel de konijnen geen ziekte-verschijnselen vertoonen. De muis-stam daartentegen werkt, voorzoover wij konden aantoonen, bij het konijn niet als antigeen.

Caviae zijn in staat antistoffen in het bloed te vormen, hoewel in mindere mate dan apen en konijnen, terwijl wij deze bij muizen niet konden aantoonen.

Wij meenen, dat, op grond van de geringe pathogeniteit van den muisstam en het feit, dat deze stam bij een konijn geen antistoffen kon verwekken, in tegenstelling met den mensch- en ratstam, het gerechtvaardigd is, dezen stam tot eene aparte variëteit te rekenen, zooals ook reeds Kasai heeft gedaan. Om dit verschil tot uiting te brengen stellen wij voor te spreken van spirillum minus var. muris, voorkomend bij witte muizen en spirillum minus var. morsus muris, voorkomend bij ratten en menschen.

SAMENVATTING.

Onze onderzoekingen samenvattend komen wij tot de volgende resultaten:

1. De ratten-bevolking van Amsterdam was in de 2e helft van 1924 in een klein percentage, 3 op 250, besmet met spirillum minus, var. morsus muris.
2. Deze spiril komt voor in het bloed van de ratten en is bij deze nooit in den bek gevonden.
3. De besmette ratten vertoonen geen enkel ziekteverschijnsel.
4. De geïnfecteerde ratten zijn in staat door den beet de infectie op caviae en andere ratten over te brengen.
5. Bij de muizen van het Kanker-Instituut te Amsterdam komt voor spirillum minus, var. muris.
6. Deze beide spirillenstammen zijn morphologisch volkomen gelijk. De spirillum minus, var. muris is echter niet pathogeen voor caviae, terwijl de spirillum minus, var. morsus muris in staat is caviae en apen ziek te maken.
7. De stammen van spirillum minus, var. morsus muris uit ratten en een stam van dezen ziekteverwekker afkomstig van een patient waren volkomen gelijk, zoowel wat morphologie, dierpathogeniteit als serologie betreft.
8. Serologische studies met deze ratstammen en den menschstam hebben ons getoond, dat sera van apen, konijnen en caviae, die ingespoten waren met een van de drie ratstammen of den menschstam een doodende en lyseerende werking hadden op de drie rat-, den mensch- en den muisstam, terwijl het serum van een konijn behandeld met spirillum minus, var. muris geen invloed op de spirillen uitoefende.
9. Op grond van de feiten vermeld in 6 en 8 zijn wij tot de onderscheiding in de twee variëteiten gekomen.
10. De eenvoudigste methode van onderzoek van het bloed naar deze spirillen is het onderzoek in het donkere veld.
11. Voor gekleurde preparaten komt de dikke druppel-methode in aanmerking, omdat men hier in eene groote hoeveelheid bloed gemakkelijk enkele exemplaren kan vinden.
12. Om een nauwkeurig beeld van den vorm van deze organismen te krijgen, geeft de zweepdraadkleuring volgens Löffler, voorafgegaan door eene behandeling met Ruge-vloeistof, de beste resultaten.

13. Op grond van den lichaamsbouw en de wijze van voortbewegen zijn wij tot de conclusie gekomen, dat deze organismen niet in het systeem der spirochaeten volgens Noguchi thuishooren, maar nader staan tot de spirillen, hoewel zij ook verschillen vertoonen met de ons bekende vormen dezer laatste.
14. De naam in 1887 door Carter gegeven is hierom met eene kleine wijziging overgenomen en hieraan toegevoegd de onderscheiding in twee variëteiten. De verwekker van de rattebeetziekte draagt den naam: spirillum minus, var. morsus muris, de niet-pathogene spiril van de muizen heet: spirillum minus, var. muris.

LITTERATUURLIJST.

Adachi. Journ. of Exp. Medic. 1921, vol. XXXIII, bl. 647. Flagellum of the Micro-organism of Rat-bite fever.

Bais. Geneesk. Tijdschr. v. Ned. Indië 1917, LVII, bl. 375, Rattenbeetziekte.

v. Berckel. Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1920, I, bl. 607. Sodoku bij een zuigeling.

Blake. Journ. of Exp. Medic. 1916, XXIII, bl. 39. The Etiology of Rat Bite Fever.

Borrel. Compt. Rend. Soc. Biol. LVII, 1905, bl. 770. Infection vermineuse et spirochètes chez les souris cancéreuses.

Breinl and Kinghorn. Lancet 1906, bl. 651. A preliminary note on a new spirochaeta found in a mouse.

Brumpt. Précis de parasitologie 1922, bl. 83.

Coles. Lancet 1918, bl. 350. Rat-bite fever (Correspondence).

Deetjen. Münch. Med. Wochenschr. 1908, vol. LV, bl. 1167.

van Dijk. Geneesk. Gids 1923, blz. 307.

Frugoni. Berl. Klin. Wochenschr. 1912, bl. 253. Sodoku.

Futaki, Takaki, Taniguchi and Osumi. Journ. of Exp. Medic. 1916, vol. XXIII, bl. 249. The cause of rat-bite fever.

— Journ. of Exp. Medic. 1917, vol. XXV, bl. 33. Spirochaeta morsus muris, n. sp. the cause of rat-bite fever.

— Iji Shimbun 1917, bl. 985. Ref. Trop. Diseas. Bull. 1919, XIII, bl. 338. Spirochaetes inoculated into Guinea pigs.

Hata. Münch. Med. Wochenschr. 1912, bl. 854. Salvarsantherapie der Rattenbiszkrankheit in Japan.

Horder. Quart. Journ. of Medic. 1910, III, bl. 121. Rat-bite fever. Three cases.

Hijmans v. d. Bergh. Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1919, I, bl. 633.

Ido, Ito, Wani and Okuda. Journ. of Exper. Medic. 1917, bl. 377, vol. XXVI. Circulating immunity principles in rat-bite fever.

Ishiwara, Ohtawara and Tamura. Journ. of Exp. Medic. 1917, bl. 45, vol. XXV. Experimental Rat-bite fever.

— Verhand. Japan. Path. Gesellsch. VII, 1917 bl. 143. Ref. Trop. diseas. Bull. 1919, bl. 339. Symptom der experimentellen Rattenbiszkrankheit, die Sklerose an der Impfstelle.

— Tokyo Igakkwai Zasshi XXX, 1916, bl. 52. Ref. Trop. diseas. Bull. 1917, IX, bl. 497. Demonstration of the Spirochaetes in healthy rats.

Kaneko and Okuda. Journ. of Exp. Medic. 1917, bl. 363. vol. XXVI. A contribution to the etiology and pathology of rat-bite fever.

Kasai. Chuwo Juikwai Zasshi 1921. XXXIV, no. 7. Ref. Trop. Diseas. Bull. 1922, XIX, bl. 559. On the differential diagnosis of Spirochaeta morsus muris and S. muris.

— Saikingaku Zasshi 1922, no. 324. Ref. Japan Medic. World, 1923, III, bl. 54.

Kitagawa and Mukoyama. The Archives of Intern. Medic. XX, bl. 317. The etiologic agent of rat-bite disease.

Kitakawa. Saikingaku Zasshi 1916 no. 249 bl. 75. Ref. Trop. Diseas. Bull. 1917 IX, no. 9.

Kobayashi and Kodama. Kitasato Archives of Exper. Medic. 1919 III, bl. 199. A contribution to the study of spirochaeta morsus muris in the Nippon Field-vole (Microtus Montebelli).

Kovacs. Central Blatt f. Bakteriologie etc. 92. Band 1924. Heft 7/8 bl. 580. Untersuchungen über die aërobe Züchtung der obligaten anaëroben Bakteriën.

Kusama, Kobayashi and Kasai. Journ. of Infect. Diseas. 1919, XXIV, bl. 366. The rat-bite fever spirochete, with comparative study of human, wild rat and field vole strains.

de Lange en Wolff. Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1921, bl. 938. Rattebeetkoorts (Sodoku).

v. Lookeren Campagne. Rattebeetziekte. Academisch proefschrift. Leiden 1922.

Middleton. Lancet 1910 bl. 1618.

Millot-Carpentier. Union Médicale 1884 bl. 1069.

Miyake. Mitt. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. 1900, V, bl. 231, Ueber die Rattenbiszkrankheit.

Mooser. Journ. of Exper. Medic. 1924 bl. 589 vol. XXXIX. Experimental studies with a spiral organism found in a wild rat.

Noguchi. Journ. of Exper. Medic. 1918, XXVII, bl. 575. Morphological characteristics and nomenclature of Leptospira (Spirochaeta) ictero-haemorrhagiae (Inado and Ido).

Ogata. Deutsche Med. Wochenschr. 1908. bl. 1099. Die aetiologie der Rattenbiszkrankheit.

— Mitt. a. d. Med. Facult. d. k. Univ. z. Tokyo 1909, VIII, bl. 287.

— Mitt. a. d. Med. Facult. d. k. Univ. z. Tokyo 1911, IX, bl. 343.

— Mitt. a. d. Med. Facult. d. k. Univ. z. Tokyo 1913, XI, bl. 179.

Onorato. Arch. Ital. Sci. Med. Colon. Tripoli 1923. Ref. Trop. Diseas. Bull. 1924 XXI, no. 9. II Sodoku in Tripolitania.

Parmanand. Indian Journ. of Medic. Research, XI, 1923, bl. 181. Rat-bitefever with special reference to its aetiological agent.

Pondman. Geneesk. Tijdschr. v. Ned. Indië 1917, LVII, bl. 368. Een geval van rattenbeetziekte.

Proescher. Berl. Klin. Wochenschr. 1912, bl. 841.

Robertson. Annals of Tropic. Medic. and Parasit. 1924, XVIII, bl. 157. Observations on the causal organism of rat-bite fever in man.

Roger. Presse Médicale. 1917, bl. 323.

Row. Ind. Journ. of Medic. Research. 1917, V, bl. 386. On a new species of spirochaete from a case of rat-bite fever in Bombay.

— Bull. Soc. Path. Exot. 1918, bl. 188. Cutaneous spirochaetosis produced by rat-bite in Bombay.

— Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg. 1922, XVI, bl. 203. Some cutaneous manifestations in rat-bite spirochaetosis.

Schottmüller. Dermat. Wochenschr. 1914, suppl. bl. 77. Zur Aetiologie und Klinik der Rattenbiszkrankheit.

Shikami. Deutsche Med. Wochenschr. 1909, bl. 376. Blutbefund bei Rattenbiszkrankheit.

Thibaut. Nouveau Traité de Médecine Fasc. V, 1924.

Tsuneoka. Kyoto Igakij Zasshi, XIV, 1917, bl. 46. Ref. Trop. Diseas. Bull. 1918. bl. 190. Ueber die Spirochaeta der Rattenbiszkrankheit.

Tunnicliff and Mayer. Journ. of Infect. Diseas. 1918, bl. 555. A case of rat-bite fever.

Tunnicliff. Journ. of Infect. Diseas. 1916, bl. 767. Streptothrix in broncho-pneumonia of rats, similar to that in rat-bite fever.

Walch. Geneesk. Tijdschr. v. Ned. Indië. LXIII, 1923. Twee gevallen van ratte-beetziekte.

Wenyon. Journ. of Hyg. VI, 1906, bl. 581. Spirochaetosis of mice due to Spirochaeta muris, n. sp. in the blood.

Yamada. Tokyo Iji Shinji. 1917, bl. 2577. Ref. Trop. Diseas. Bull. 1919, bl. 338. Spontaneous Transmission from Guinea pigs to rabbits.

Zuelzer. Central Blatt f. Bakter. etc. 1921, bd. 85, bl. 154*. Biologische und systematische Spirochaetenuntersuchungen.

AFBEELDINGEN

Plaat I. Spirillum minus.

1—12 kleuring volgens Löffler, voorafgegaan door behandeling met Rugesche vloeistof.
13 dikke druppel. Giemsa kleuring.
14 uittrekpreparaat. Giemsa kleuring.
15 coupe van nier van cavia R_{16} behandeld volgens Levaditi.

Plaat II. Spirillum minus bij verschillende kleurmethodes.

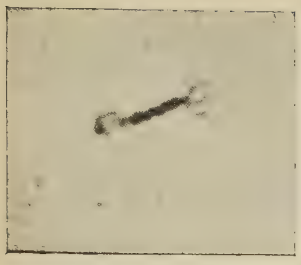
1 en 2 kleuring volgens Löffler, voorafgegaan door behandeling met Rugesche vloeistof.
3 en 4 Leishman kleuring.
5 Giemsa kleuring, uittrekpreparaat.
6 Giemsa kleuring, dikke druppel.
7 en 8 Heidenhain kleuring.

Alle vergrootingen met Zeiss apochromaat 2 m.m. homal 4, afstand 50 c.M. (vergrooting ± 1500 ×).

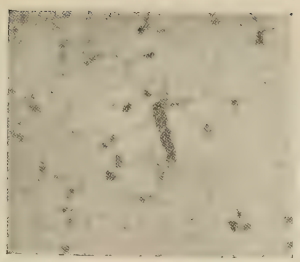
Plaat III. Oogverschijnselen bij proefondervindelijke rattebeet-ziekte bij caviae.

1 normaal oog.
2 vernauwing van de oogspleet bij beginnende conjunctivitis en keratitis.
3 vernauwing van de oogspleet bij sterke conjunctivitis en keratitis.

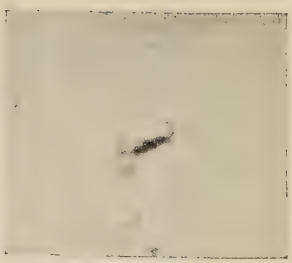
PLAAT I



1

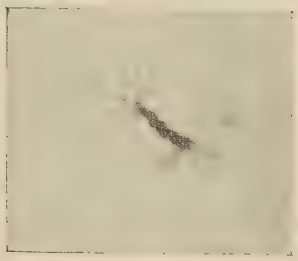


2

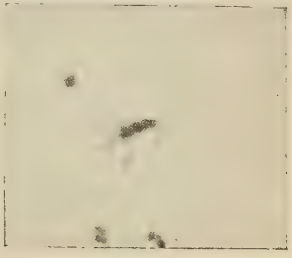


3

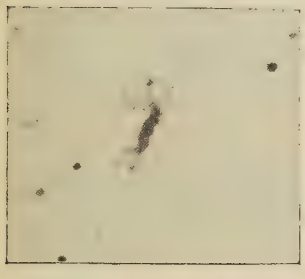
4



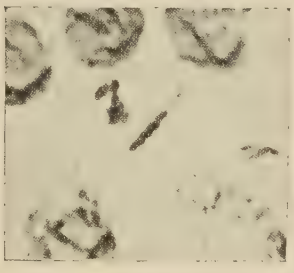
5



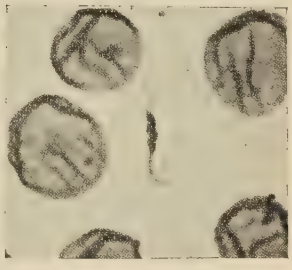
6



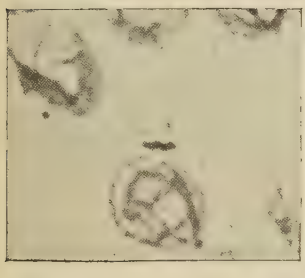
7



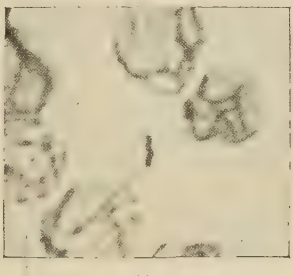
8



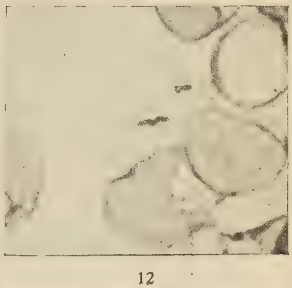
9



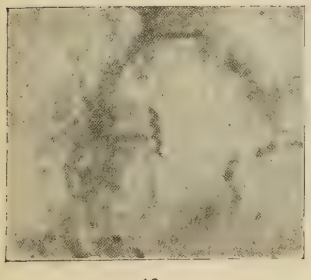
10



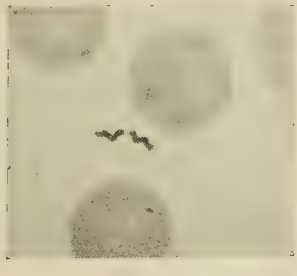
11



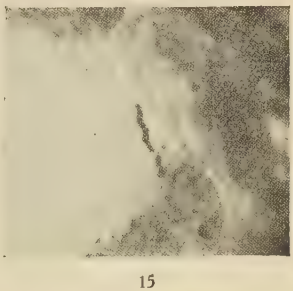
12



13

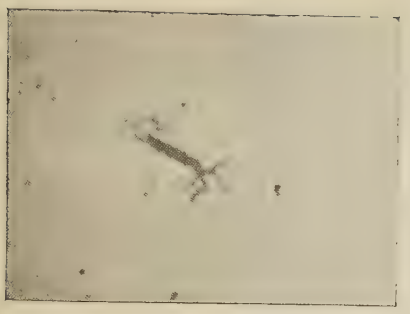


14

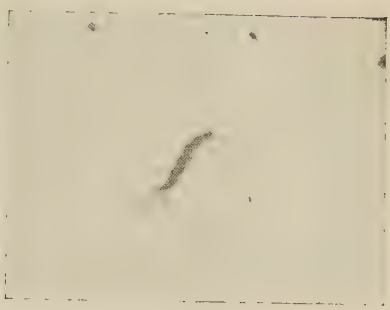


15

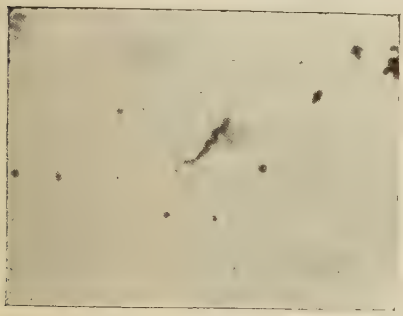
PLAAT II



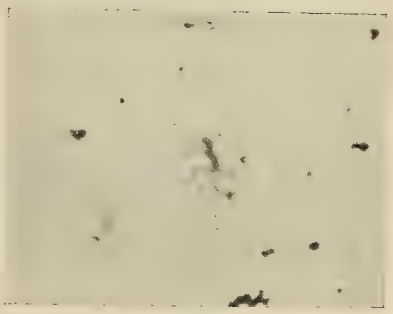
1



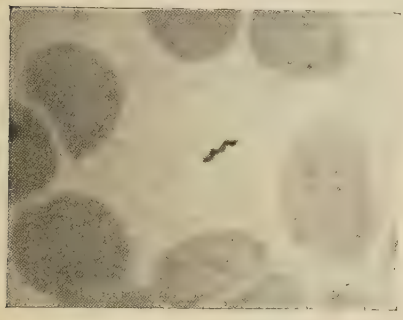
2



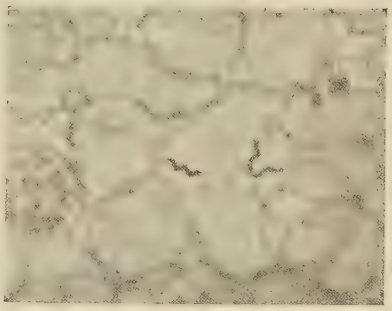
3



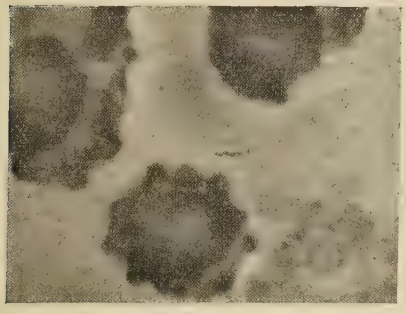
4



5



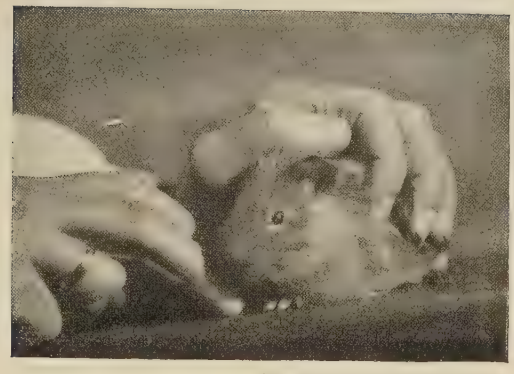
6



7

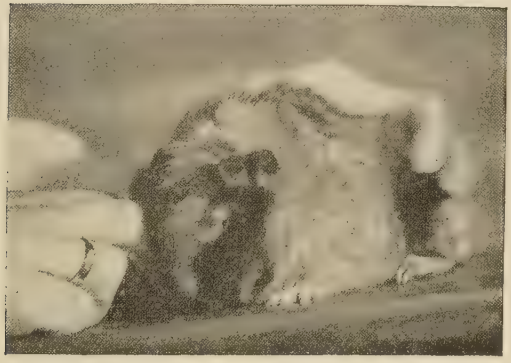
8

PLAAT III



1

2



3

STELLINGEN.

1

De pogingen om de hygiënische betrouwbaarheid van drinkwater in verband te brengen met de biochemische eigenschappen der daar uit geïsoleerde colibacteriën (Koser. Journ. of Bacter. IX.59.) verdienen geen steun.

2

Voor het vervaardigen van bloedpreparaten is de voorwerpglasmethode te verkiezen boven de dekglasmethode.

3

Het is wenschelijk om bij patiënten met koorts in aansluiting aan een val in het water een onderzoek naar de aanwezigheid van leptospiren in te stellen.

4

Het is waarschijnlijk, dat Phlebotomus argentipes de overbrenger van de kala-azar is.

5

Er is geen reden om aan te nemen, dat de voorkant van de iris van den mensch met endotheel bekleed is.

6

Bij de bestudeering van het kankervraagstuk is het wenschelijk een epidemiologisch onderzoek op groote schaal in te stellen.

7

In ernstige gevallen van peritonitis verdient het draineeren van den ductus thoracicus overweging.

8

Er is geen reden om aan te nemen, dat de zoogenaamde neurinomen van Verocay uit ectodermaal weefsel bestaan.

9

De leeftijden van de ouders hebben geen invloed bij de geslachtsbepaling van de vrucht.